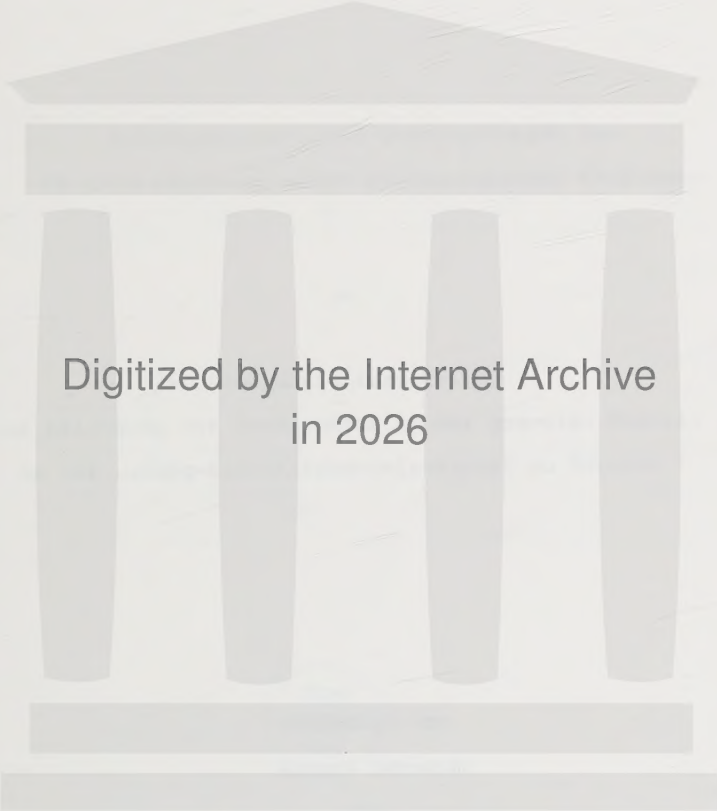


Autoradiographische Untersuchungen
zum Proliferationsverhalten
gynäkologischer Karzinome

Hubert Wehweck

1981
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548325_0017

Aus dem Strahlenbiologischen Institut
der Universität München
Vorstand: N. N.

Autoradiographische Untersuchungen zum
Proliferationsverhalten gynäkologischer Karzinome

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hubert Wehweck
aus
Traunstein

1981

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter:	Prof. Dr. K.R. Trott
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. M. Eder
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	5. November 1981



Für die Überlassung des Themas und für aktive Förderung bei der Entstehung dieser Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. K.-R. Trott vom Strahlenbiologischen Institut der Universität München.

Desgleichen gilt mein Dank Herrn Dr. J. Kummermehr, Abt. Strahlenbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung Neuherberg, der mich mit fachkundigem Rat und stetigem Interesse bei dieser Arbeit unterstützt hat. Ebenso sei an dieser Stelle Frl. Pfeifer vom Strahlenbiologischen Institut der Universität für zahlreiche praktische Anleitungen bei der Einarbeitung in die Methodik herzlich gedankt.

Herr Prof. Dr. J. Zander, Direktor der I. Frauenklinik der Universität München, hat in großzügiger Weise durch Bereitstellung von Untersuchungsmaterial diese Arbeit ermöglicht. Ihm und den Ärzten seiner Klinik gilt mein besonderer Dank.

Diese Arbeit entstand im Rahmen eines Forschungsprogramms, das durch Mittel der Wilhelm Sander - Stiftung gefördert wurde.

MEINEN ELTERN GEWIDMET

1. Einleitung	1
2. Die Eltern	2
3. Die Kindheit	3
4. Die Jugend	4
5. Die Ehe	5
6. Die Kinder	6
7. Die Eltern	7
8. Die Kindheit	8
9. Die Jugend	9
10. Die Ehe	10
11. Die Kinder	11
12. Die Eltern	12
13. Die Kindheit	13
14. Die Jugend	14
15. Die Ehe	15
16. Die Kinder	16
17. Die Eltern	17
18. Die Kindheit	18
19. Die Jugend	19
20. Die Ehe	20
21. Die Kinder	21
22. Die Eltern	22
23. Die Kindheit	23
24. Die Jugend	24
25. Die Ehe	25
26. Die Kinder	26
27. Die Eltern	27
28. Die Kindheit	28
29. Die Jugend	29
30. Die Ehe	30
31. Die Kinder	31
32. Die Eltern	32
33. Die Kindheit	33
34. Die Jugend	34
35. Die Ehe	35
36. Die Kinder	36
37. Die Eltern	37
38. Die Kindheit	38
39. Die Jugend	39
40. Die Ehe	40
41. Die Kinder	41
42. Die Eltern	42
43. Die Kindheit	43
44. Die Jugend	44
45. Die Ehe	45
46. Die Kinder	46
47. Die Eltern	47
48. Die Kindheit	48
49. Die Jugend	49
50. Die Ehe	50
51. Die Kinder	51
52. Die Eltern	52
53. Die Kindheit	53
54. Die Jugend	54
55. Die Ehe	55
56. Die Kinder	56
57. Die Eltern	57
58. Die Kindheit	58
59. Die Jugend	59
60. Die Ehe	60
61. Die Kinder	61
62. Die Eltern	62
63. Die Kindheit	63
64. Die Jugend	64
65. Die Ehe	65
66. Die Kinder	66
67. Die Eltern	67
68. Die Kindheit	68
69. Die Jugend	69
70. Die Ehe	70
71. Die Kinder	71
72. Die Eltern	72
73. Die Kindheit	73
74. Die Jugend	74
75. Die Ehe	75
76. Die Kinder	76
77. Die Eltern	77
78. Die Kindheit	78
79. Die Jugend	79
80. Die Ehe	80
81. Die Kinder	81
82. Die Eltern	82
83. Die Kindheit	83
84. Die Jugend	84
85. Die Ehe	85
86. Die Kinder	86
87. Die Eltern	87
88. Die Kindheit	88
89. Die Jugend	89
90. Die Ehe	90
91. Die Kinder	91
92. Die Eltern	92
93. Die Kindheit	93
94. Die Jugend	94
95. Die Ehe	95
96. Die Kinder	96
97. Die Eltern	97
98. Die Kindheit	98
99. Die Jugend	99
100. Die Ehe	100

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL, METHODEN	4
2.1. Material	4
2.1.1. Patientinnenkollektiv	4
2.1.2. Materialgewinnung	4
2.2. Histologische und autoradiographische Auf- arbeitung des Tumormaterials	5
2.2.1. Herstellung von Gewebsscheibchen	5
2.2.2. Inkubation mit tritiiertem Thymidin (^3H -TdR)	6
2.2.3. Histologische Aufarbeitung	6
2.2.4. Autoradiographie und Färbung	7
2.3. Mikroskopische Auswertung der Autoradiogramme	7
2.3.1. Zeichnerische Darstellung des Präparats	7
2.3.2. Bestimmung des Markierungsindex (LI)	8
3. ERGEBNISSE	10
3.1. Fallaufstellung	10
3.2. Darstellung der Einzelfälle	12
4. DISKUSSION	64
4.1. Quantitative Betrachtung des ^3H -Markierungsindex und der Zellproduktion	64
4.1.1. Häufigkeitsverteilung des ^3H -Markierungsindex	64
4.1.2. Zellproduktion und potentielle Verdopplungszeit	68
4.1.3. Klinische Verdopplungszeit und Zellverlust	70
4.2. Räumliches Muster der Zellproliferation	72
4.2.1. Markierungsmuster als verzerrtes Abbild normaler Plattenepithelproliferation	72
4.2.2. Differenzierungsgrad und Markierungsmuster	73
4.2.3. Tumorstruktur und lokaler Markierungsindex	75
4.2.4. Gefäßversorgung und Markierungsmuster	76
4.2.5. Lokale Unterschiede in der Silberkorndichte markierter Zellen	79

4.2.6.	Markierungsmuster der untersuchten Mammarkarzinome	81
4.2.7.	Entzündliches Infiltrat und Tumorzellproliferation	82
4.3.	Quantitative Betrachtung der Zellproliferation in vorbestrahlten Tumoren	84
4.3.1.	Häufigkeitsverteilung des ^3H -Markierungsindex in vorbestrahlten Tumoren	84
4.3.2.	Morphologie und Markierungsmuster der vorbestrahlten Tumoren	88
4.3.3.	Das entzündliche Infiltrat in vorbestrahlten Tumoren	89
4.4.	Strahleninduzierte Veränderungen des Markierungs- index und prognostische Aussagemöglichkeit	90
5.	ANHANG: HISTOLOGISCHE TECHNIKEN	95
5.1.	Einbettung in Methacrylat	95
5.2.	Hämatoxylin-Eosin Färbung der Autoradiogramme	96
5.3.	PAS Färbung der histologischen Präparate	96
6.	ZUSAMMENFASSUNG	98
7.	LITERATURVERZEICHNIS	100
8.	LEBENS LAUF	112

1. EINLEITUNG

Eine Markierung proliferierender Zellen im Gewebe ist durch den Einbau des Nukleosids ^3H -Thymidin (^3H -TdR) in die DNS des Zellkerns möglich. Dazu ist das ^3H -TdR durch zwei in experimenteller Hinsicht günstige Eigenschaften ausgezeichnet: a) es ermöglicht infolge seiner DNS-Spezifität (72) eine selektive Markierung der DNS und damit des Zellkerns fast ausschließlich während der DNS-Synthesephase des Zellzyklus, b) die autoradiographische Lokalisierbarkeit der ^3H -Betastrahlung ist wegen ihrer sehr kurzen maximalen Reichweite von 2 - 3 μm besonders gut (89) und gestattet, die Lage markierter Zellen im Gewebe genau festzustellen.

Der Einsatz von ^3H -TdR erlaubt im Tierexperiment ausführliche zellkinetische Untersuchungen. Anwendungsgebiete sind u.a. die quantitative Messung von Zellzyklusparametern, der Vergleich der Proliferationskinetik normaler und maligne entarteter Zellsysteme, die Erfassung von Unterschieden im Wachstumsverhalten einzelner Tumorklassen sowie die Beobachtung des topographischen Verteilungsmusters proliferierender Zellen im Gewebeverband und der Zusammenhang zwischen feingeweblichem Aufbau und Zellvermehrung gesunder und maligne entarteter Zellpopulationen. Darüber hinaus versucht man den Einfluß zytotoxischer Behandlung (Bestrahlung, Chemotherapie und ihre Kombinationen) auf die Zellkinetik auch mit Hilfe der Autoradiographie zu quantifizieren.

Beim Menschen sind entsprechend breite und ausführliche Untersuchungen nur in ganz vereinzelt Fällen möglich. Technische und organisatorische Probleme, ein beträchtlicher Kostenaufwand, nicht zuletzt aber das mit dem Einbau radioaktiver Substanzen in die DNS als Träger der Erbinformation verbundene genetische Risiko haben die Anwendung der in vivo-Methode auf wenige, speziell ausgesuchte Fälle eingeschränkt.

Wesentliche Daten sind jedoch auch beim Menschen durch die extrakorporale Inkubation von frisch entnommenen Operations- bzw. Biopsiematerials zu gewinnen. Der Nachweis, daß Zellen

unter geeigneten Bedingungen ihre in vivo begonnene DNS-Synthese auch in vitro unvermindert fortsetzen, wurde vielfach erbracht (23,44,67,69,70,81). Die Ergebnisse von in vitro und in vivo Markierung entsprechen sich daher grundsätzlich.

Eine wesentliche Einschränkung der Aussage bei in vitro inkubierten Präparaten, die bisher in Kauf genommen werden mußte, besteht jedoch darin, daß die soliden Explantate eine ^3H -TdR-Inkorporation nur in einem schmalen peripheren Randstreifen aufweisen. Wie von Rajewski (67) und Steel (81) experimentell bewiesen werden konnte, wird die Breite der Markierungszone limitiert durch die Diffusionsstrecke des Sauerstoffs. Der steile Abfall der O_2 -Konzentration von der Oberfläche nach innen bedingt, daß bei normobarer Inkubation die DNS-Synthese bereits in einer Tiefe von etwa $150\text{ }\mu\text{m}$ zum Erliegen kommt.

Verschiedene Wege zur Verbesserung der Sauerstoffversorgung im untersuchten Gewebe wurden besprochen. Neben einem Verzicht auf die Betrachtung des Gewebzusammenhangs durch Inkubation von Einzelzellsuspensionen (14,19,53,59,60,77,102) wurden auch Versuche unternommen, die O_2 -Diffusion durch Zugabe von Hyaluronidase zum Inkubationsgemisch zu verbessern (7,9). Erst die von Steel (81) und Rajewski (67) standardisierte Technik der Inkubation unter hyperbarem Sauerstoff erzielte eine verlässliche Markierung bis zu einer Gewebstiefe von durchschnittlich $250\text{ }\mu\text{m}$.

Das von uns verwendete Verfahren beruht darauf, daß bereits die Substratabmessungen den Gegebenheiten der begrenzten Sauerstoffdiffusion Rechnung tragen (22). Durch Verwendung ca. $370\text{ }\mu\text{m}$ dicker Gewebsscheibchen läßt sich sowohl eine homogene Markierung wie auch eine großflächige Darstellung im Gewebzusammenhang erreichen.

Autoradiographisch untersucht wurden 23 Biopsien bzw. Operationspräparate gynäkologischer Tumoren (12 Uteruskarzinome, 7 Vulvakarzinome, 4 Mammakarzinome), 8 davon mit einer externen Kurzzeitvorbestrahlung bis 750 R, eines mit einer kurativen Strahlentherapie vor $1\frac{1}{2}$ Jahren.

Neben der Bestimmung quantitativer Parameter der Wachstumskinetik wurde besonderes Gewicht gelegt auf den Zusammenhang zwischen dem Proliferationsverhalten der Tumorzellen und der histologischen Differenzierung des Tumorparenchyms bzw. der topographischen Lage der malignen Zellen im Gewebsverband. Mögliche Auswirkungen einer vorausgegangenen Radiotherapie auf die Zellproliferation werden diskutiert.

2. MATERIAL, METHODEN

2.1. Material

2.1.1. Patientinnenkollektiv

Untersucht wurden Tumorbiopsien und Operationspräparate von 23 Patientinnen, die zwischen Februar 1977 und Juli 1978 in die I. Universitäts - Frauenklinik München zur Behandlung kamen. 12 Patientinnen litten an einem Karzinom des Uterus, 7 an einem Karzinom der Vulva und 4 an einem Mammakarzinom.

Von den 23 Patientinnen hatten 8 eine externe Kurzzeitvorbestrahlung vor Biopsieentnahme bis zu einer Gesamttumordosis von 750 R erhalten. Bei einer Patientin mit einem Vulvakarzinom lag die Radiotherapie mit 5200 R etwa 1,5 Jahre zurück.

Die Auswahl der untersuchten Patientinnen richtete sich weitgehend nach der Größe des Lokalbefundes und der Zugänglichkeit des Tumors, denn diese Faktoren bestimmten, ob überhaupt Material zur Verfügung gestellt werden konnte. Uteruskarzinome wurden nur dann in die Arbeit mitaufgenommen, wenn keine intrakavitäre Radiumeinlage vorausgegangen war.

Die so erhaltenen Tumorpräparate wurden in der chronologischen Reihenfolge ihres Eingangs mit Gyn 1 bis 37 durchnumeriert.

2.1.2. Materialgewinnung

Bei den Gewebstückchen vom Uterus handelte es sich um Material, das unmittelbar vor der ersten Radiumeinlage mit der Biopsiezange von der Portio gewonnen oder mit der Kürette aus dem Zervikalkanal gefördert wurde. Die überlassenen Proben waren etwa reiskorn- bis erbsengroß.

Das Material der untersuchten Vulvakarzinome wurde gewonnen a) durch Probeexcision aus dem Tumor mit dem Skalpell (Gyn 2, 12, 37), b) durch Ausschneiden eines kleinen Gewebstückchens aus einem Vulvektomiepräparat, das mit der elektrischen Schlinge reseziert worden war (Gyn 9, 21, 24). Hierbei wurde darauf geachtet, daß die verwendeten Gewebe-

partien einen Sicherheitsabstand von mindestens 2,5 cm zum Abtragungsrand aufwiesen. Der Zeitbedarf für die Vulvektomie kann mit 20 min angesetzt werden. Die reale Ischämiezeit (nach Koagulation der A. pudendalis) beträgt dagegen nur 7 - 10 min. c) aus dem makroskopisch noch unveränderten Zentrum eines elektrokaustisch abgetragenen Tumorknotens (Gyn 8). In diesem Fall betrug der Abstand zum Resektionsrand etwa 1,5 cm.

Die Gewebepartikel der Mammakarzinome stammten aus Material, das zur Schnellschnittuntersuchung aus dem Operationssaal unmittelbar in das histologische Labor der Klinik gebracht wurde. Die reale intraoperative Ischämiezeit kann hier mit 15 min angesetzt werden.

Alle Gewebeproben wurden unmittelbar im Anschluß an die Entnahme in ein Glasröhrchen mit etwa 10 ml Hank's Lösung von Zimmertemperatur gegeben. Präparate von Zervix- und Vulvakarzinomen wurden dann sofort in das Labor des Strahlenbiologischen Instituts gebracht. Präparate von Mammakarzinomen lagerten erst zwischen 5 und 45 min im Kühlschrank, bevor auch sie in das Labor gebracht und sofort weiterverarbeitet werden konnten.

Für den Transport von der Universitäts - Frauenklinik in das Strahlenbiologische Institut ist ein Zeitbedarf von ca. 15 min zu veranschlagen.

2.2. Histologische und autoradiographische Aufarbeitung des Tumormaterials

2.2.1. Herstellung von Gewebsscheibchen

Zur Verarbeitung wurde das Biopsiematerial, soweit überhaupt nötig, von zerfetzten Gewebsanhängseln befreit und zu einem Würfel von maximal 0,3 cm Kantenlänge verkleinert. Über einem Korkbrett wurden anschließend Scheibchen von etwa 370 μ m Dicke senkrecht zur Unterlage aus dem Gewebblock geschnitten. Das dazu verwendete Schneidegerät bestand im wesentlichen aus drei parallel angeordneten, im Abstand von 0,37 mm miteinander verschraubten Rasierklingen. Diese wurden für jedes Präparat erneuert, um möglichst glatte, untraumatisierte und nicht gequetschte Schnitte zu er-

halten.

2.2.2. Inkubation mit tritiiertem Thymidin (^3H - TdR)

Die so gewonnenen Scheibchen wurden in eine kleine Plastikpetrischale mit ca. 8 ml der Inkubationslösung übertragen und durch vorsichtiges Schwenken entfaltet. Als Inkubationsmedium diente Eagle's Lösung mit einem Zusatz von 2 $\mu\text{Ci/ml}$ ^3H -Thymidin (spez. Aktivität 2 - 5 Ci/mmol). Die Petrischale wurde dann in eine luftdicht verschließbare Druckkammer aus Plexiglas gesetzt und diese nach gründlichem Gasaustausch mit Sauerstoff von 2,5 atü gefüllt. Nach Verbringen in ein vorgeheiztes Schüttelwasserbad erreichte der inkubierte Ansatz in etwa 30 min eine Temperatur von annähernd 37°C und wurde dann für weitere 2 Stunden im Wasserbad belassen. Die Schüttelfrequenz betrug ca. 25/min.

Am Ende der Inkubationszeit wurde der Druck im Tank abgelassen und das aktive Medium mit einer Injektionsspritze aus der Petrischale abgesaugt. Zum Auswaschen von nicht inkorporiertem ^3H -Thymidin wurden die Scheibchen anschließend 3 bis 5 min mit reichlich Hank's Lösung, die einen Zusatz von unmarkiertem Thymidin enthielt, gespült.

2.2.3. Histologische Aufarbeitung

Die Scheibchen wurden dann in ein Formalin - Alkohol - Gemisch übertragen, dabei vorsichtig ausgebreitet und unter Belastung mit einem siebartig perforierten V_2A - Blech für ca. 60 min anfixiert. Die endgültige Fixierung erfolgte in einer Biopsiekapsel des Einbettungsautomaten Autotechnikon (Fa. Technikon), wobei das Präparat ebenfalls durch eine Siebplatte belastet war.

Zur Weiterverarbeitung wurden die Präparate in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und über mehrere Zwischenstufen schließlich in Methylmethacrylat eingebettet (Arbeitsgang siehe Anhang). Durch die spezielle Einbettungstechnik war in fast allen Fällen eine plane Lage der dünnen Gewebsscheibchen erreichbar.

Von den ausgehärteten Acrylatblöcken wurden in einem Hart-

schnittmikrotom K (Fa. Jung AG) je 20 Schnitte von $3\text{ }\mu\text{m}$ Dicke angefertigt. Nach dem Strecken der Schnitte in einem erwärmten Wasserbad von 45°C konnten sie auf gelatinebeschichtete Objektträger aufgezogen und im Trockenschrank bei 40°C in einer Anpressvorrichtung getrocknet werden.

2.2.4. Autoradiographie und Färbung

Von jedem Karzinom wurden mindestens 2 Schnitte autoradiographiert. Die Auswahl günstiger Schnittebenen erfolgte aufgrund HE gefärbter Präparate unterschiedlicher Schnitttiefen.

Die Autoradiographie setzte eine gründliche Entacrylierung der Schnitte mit Methylglykolacetat voraus. Die anschließend mit 99% Aethanol abgespülten und luftgetrockneten Schnitte wurden in der Dunkelkammer nach der sogenannten " dipping - Methode " mit NTB 2 Fotoemulsion beschichtet. Die gelartige Fotoemulsion wurde dazu bei 42°C im Wasserbad geschmolzen und mit aqua bidest. 1:1 verdünnt. Dann wurden die Objektträger durch kurzes Eintauchen mit einer dünnen Schicht der Fotoemulsion überzogen, kurz angetrocknet und in einem lichtundurchlässigen Behälter für 4 Wochen im Kühlschrank aufbewahrt. Die Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank wurde durch Silikagel niedrig gehalten. Nach dieser Expositionszeit wurden die Präparate entwickelt (Kodak Entwickler D19b) und fixiert (Kodak Unifix). Die entwickelten Autoradiogramme wurden dann mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt und mit Eukitt eingedeckt (Arbeitsgang siehe Anhang).

Zur besseren Differenzierung von Gewebsstrukturen wurden außerdem PAS-Färbungen nicht autoradiographierter Schnitte, möglichst aus unmittelbar benachbarten Schnittstufen, angefertigt (siehe Anhang).

2.3. Mikroskopische Auswertung der Autoradiogramme

2.3.1. Zeichnerische Darstellung des Präparats

Zur zeichnerischen Auswertung gelangte je ein autoradiographierter Schnitt jedes Präparates. Mit einem Diapro-

jektor wurde hierzu das Präparat auf Zeichenpapier projiziert und die erkennbaren Umrisse der Strukturen nachgezeichnet. Diese Zeichnung wurde durch Vergleich mit dem mikroskopischen Bild durch Details ergänzt und die Zugehörigkeit einzelner Strukturen zu den verschiedenen Gewebearten wie Tumorparenchym, normales Plattenepithel, lymphatische Infiltrate usw. durch unterschiedliche graphische Symbole dargestellt.

2.3.2. Bestimmung des Markierungsindex (LI)

Die quantitative Auswertung der Autoradiogramme erfolgte unter Verwendung eines Ölimmersionsobjektivs (100fache Vergrößerung) und eines Okulars mit 10facher Vergrößerung.

Eine gewisse Schwierigkeit bei der Entscheidung, ob ein Zellkern markiert ist oder nicht, bereitete die in jedem Präparat mehr oder weniger auftretende Hintergrundmarkierung (sog. Nulleffekt). In den untersuchten Gewebsschnitten lag der Nulleffekt immer unter 3 Silberkörnern pro Zellkern. Zellen mit weniger als 5 Silberkörnern pro Kern wurden als unmarkiert eingestuft.

Für eine randomisierte Auswertung wurde die Zählung mittels eines Strichplattenokulars mit zwei parallelen Linien vorgenommen, die im Gesichtsfeld des Mikroskops bei der verwendeten Gesamtvergrößerung einen Streifen von 25 µm Breite begrenzten.

In annähernd gleichmäßigem Abstand wurden solche Bänder durch das Präparat gelegt und alle markierten und unmarkierten Zellen gezählt, die innerhalb der Begrenzungslinien lagen bzw. von diesen geschnitten wurden (in den Zeichnungen durch senkrechte Striche angedeutet und mit arabischen Ziffern durchnummeriert). Die Zählwerte pro Band sind in den Zeichnungen jeweils einzeln angegeben, um die Streubreite des LI im vitalen Gewebe zu demonstrieren.

In geeigneten Fällen (kleinere, gut abgrenzbare Tumorzellkomplexe; intralymphatische Mikrometastasen) wurden kleinere Areale auch total, d.h. durch Auszählung sämt-

licher Zellen ausgewertet. Die ermittelten Werte sind wie oben angegeben, wobei die ausgezählten Strukturen in den Skizzen durch Großbuchstaben bezeichnet sind. Teilweise wurden beide Verfahren miteinander kombiniert.

Dabei erwies es sich vor allem bei fein dissoziierend wachsenden Tumoren manchmal als sehr schwierig, Tumorzellen von ortsständigen Histiozyten oder Fibroblasten zu unterscheiden. In diesen Fällen wurden nur solche Zellen als maligne gezählt, die Bestandteil kleiner, unzweifelhaft als karzinomatös erkennbarer Zellkomplexe waren.

Zusätzliche Schwierigkeiten ergaben sich bei der Festlegung der Tumorzellpopulation, die in die Auswertung miteinzubeziehen war, z.B. bei Karzinomen mit gradueller Differenzierung bis zur Nekrose. Grundsätzlich wurden zur Bestimmung des Markierungsindex nur solche Zellen herangezogen, die im mikroskopischen Bild mit großer Wahrscheinlichkeit als vital anzusehen waren.

Bei den verhornenden Plattenepithelkarzinomen von Zervix und Vulva beschränkte sich die Zählung auf jene Zellschichten, die noch einen regelrechten, nicht kondensierten oder ballonierten Zellkern aufwiesen.

Schließlich wurde als Quotient aus der Zahl aller markierten Zellen zur ausgezählten Gesamtzellzahl ein mittlerer Markierungsindex des vorliegenden Tumorschnitts ($\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}}$) berechnet.

3. ERGEBNISSE

3.1. Fallaufstellung

In Tab. 1 wird eine Auflistung der Patientinnen gegeben, deren Tumoren in dieser Arbeit untersucht wurden. Weitere Rubriken enthalten den Gesamtmarkierungsindex des ausgewerteten Tumorschnitts, eine daraus berechnete potentielle Tumorverdopplungszeit (Definition und Ableitung siehe 4.1.2.) sowie die Daten der Vorbestrahlung. Die Vorbehandlung ist dabei angegeben als Einzeldosis/Zeitpunkt der Verabreichung vor Biopsie. Alle Dosisangaben beziehen sich auf die berechnete Tumorherddosis. Beispielsweise bedeutet die Angabe 250 R/3.2.Tag, daß die Patientin eine Vorbestrahlung von insgesamt 500 R Herddosis mit Einzeldosen von jeweils 250 R am 3. und 2. Tag vor Biopsieentnahme erhalten hatte. Die Dosisangabe für das Vulvakarzinom Gyn 8 stellt selbstverständlich die Gesamtdosis einer vor ca. 1,5 Jahren durchgeführten fraktionierten Bestrahlung dar.

<u>Pat.</u>	<u>Alter</u>	<u>Lokalisation</u>	<u>Vorbehandlung</u>	<u>LI Tumor</u>	<u>T_D pot</u>	<u>Lfd. Nr.</u>
H.T.	68 Jahre	Zervix	250R/2.Tag	9,0 %	6,7 Tage	Gyn 6
H.J.	71	"	-	8,7	6,9	Gyn 10
K.K.	55	"	250R/2.Tag	21,2	2,8	Gyn 14
V.A.	68	"	250R/2.Tag	11,2	5,3	Gyn 18
S.A.	56	"	250R/3.1.Tag	13,0	4,6	Gyn 22
W.A.	77	"	-	15,3	3,9	Gyn 23
L.A.	76	"	250R/5.4.Tag	5,4	11,2	Gyn 25
H.R.	64	"	250R/2.Tag	23,1	2,6	Gyn 27
M.A.	75	"	-	15,8	3,7	Gyn 31
F.W.	64	"	250R/3.2.Tag	22,0	2,8	Gyn 32
H.T.	74	"	-	17,1	3,5	Gyn 35
S.F.	60	Zervix/Corpus ?	-	12,7	4,7	Gyn 17
S.B.	71	Vulva	-	8,3	7,2	Gyn 2
B.T.	71	"	5200R/1,5 Jahre	5,0	12,0	Gyn 5
E.E.	63	"	-	11,8	5,1	Gyn 9
H.T.	71	"	250R/11.9.7.Tag	19,0	3,2	Gyn 21
S.T.	73	"	-	9,3	6,5	Gyn 24
K.M.	79	"	-	10,6	5,5	Gyn 37
S.M.	78	Melanom Vulva	-	3,3	10,0	Gyn 12
K.B.F.	74	Mamma	-	2,6	23,0	Gyn 18
L.M.	66	"	-	1,5	40,0	Gyn 20
K.E.	63	"	-	1,6	37,5	Gyn 19
B.A.	61	"	-	3,1	19,3	Gyn 30

Tab. 1: Aufstellung der untersuchten Fälle von Tumoren des Genitalbereichs bzw. der Mamma

3.2. Darstellung der Einzelfälle

Die folgenden Seiten bringen eine systematische Darstellung aller Einzelfälle jeweils mit einer maßstäblichen Skizze, einer Kurzfassung von klinischem Befund und Vorbehandlung, sowie einer Beschreibung des histologischen und autoradiographischen Bildes.

Den Präparateskizzen wurden folgende graphische Symbole zugrundegelegt:



= Tumorparenchym



= ortsständiges normales Plattenepithel



= entzündliches Infiltrat



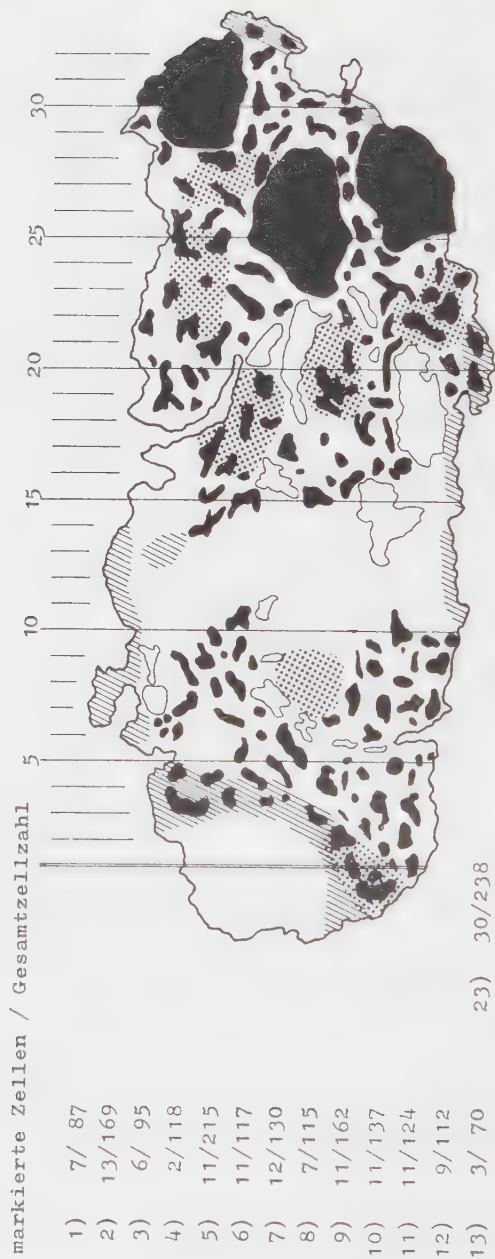
= Fettgewebe



= Fibrin



= Nekrosezone



- 1) 7/ 87
- 2) 13/169
- 3) 6/ 95
- 4) 2/118
- 5) 11/215
- 6) 11/117
- 7) 12/130
- 8) 7/115
- 9) 11/162
- 10) 11/137
- 11) 11/124
- 12) 9/112
- 13) 3/ 70
- 14) 4/ 30
- 15) 4/ 43
- 16) 5/168
- 17) 3/111
- 18) 16/113
- 19) 3/126
- 20) 14/130
- 21) 14/184
- 22) 26/218

- 23) 30/238
- 24) 25/168
- 25) 18/181
- 26) 10/140
- 27) 26/218
- 28) 14/176
- 29) 19/190
- 30) 21/139
- 31) 16/ 99
- 32) 11/ 52

1 mm

H.T. 68J.
Gyn 6

L.I.: 393/4349 = 9 %

Pat.: H.T. 68 Jahre

Gyn 6

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Anstelle des Muttermundes tastet man eine kraterförmige Vertiefung. Das rechte Parametrium zeigt in seinen unteren Anteilen eine bleistiftdicke, völlig glatt konturierte Straffung. Das linke Parametrium ist ebenfalls narbig gestrafft.

Vorbehandlung: 2 Tage vor Biop.: ^{60}Co 250 R

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein ca. 5,5 x 2 mm messender Schnitt von der Portio uteri. Das Präparat weist größere Defekte und stellenweise nekrotische Ränder auf, verursacht durch Gewebszerreißen bei der Kürettage.

Die nur spärlich vorhandene glatte Muskulatur der Portio wird durchwachsen vom Tumorgewebe eines Plattenepithelkarzinoms, das aus großen, uniformen Zellen mit schwach basophilen Kernen besteht und keine Differenzierung erkennen läßt. In seiner Struktur zeigt der Tumor neben Arealen, wo die Zellen in größeren soliden Verbänden zusammenliegen, in weiten Abschnitten ein ausgesprochen trabekuläres Wachstum.

Das Gewebe zwischen den Krebszellen ist durchsetzt von einem meist lockeren entzündlichen Infiltrat, das sich stellenweise zu kleinen, vorwiegend plasmazellulären Knötchen verdichtet.

Autoradiographie: Markierte Zellen finden sich zufällig im ganzen Krebsgewebe verstreut. Jedoch sind die fein dissozierend wachsenden Tumorpartien deutlich höher markiert als die soliden. Gerade bei den ersteren kann man häufig beobachten, wie selbst Zellen in direktem Kontakt mit Lymphozyten und Plasmazellen noch ^3H -TdR inkorporieren.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 393/4349 = 9,0 \%$$

Die Zellen des entzündlichen Infiltrats sind nicht markiert.

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

- 1) 3 / 78
- 2) 13 / 183
- 3) 26 / 261
- 4) 46 / 343
- 5) 59 / 420
- 6) 32 / 354
- 7) 34 / 455
- 8) 53 / 501
- 9) 30 / 436
- 10) 31 / 465
- 11) 40 / 384
- 12) 30 / 379
- 13) 10 / 180
- 14) 12 / 175
- 15) 9 / 191
- 16) 1 / 171
- 17) 1 / 115

L.I.: 430/4920 = 8,7 %



H.J. 71J.
Gyn 10

Pat.: H.J. 71 Jahre

Gyn 10

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Bei der SpekulumEinstellung sieht man einen kleinen, exophytisch wachsenden Tumor, der zirkulär auf das obere Drittel der Vagina übergreift. In beiden Leistenregionen lassen sich mehrere unverschiebliche Lymphknoten tasten.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Bei dem ca. 4,5 x 3 mm messenden Präparat handelt es sich um eine Biopsie von der Portio uteri. Die ortständige glatte Muskulatur ist jedoch fast vollständig ersetzt durch unregelmäßige Nester eines entdifferenzierten Plattenepithelkarzinoms. Nur ganz vereinzelt deutet sich im Krebsgewebe eine beginnende Verhornung an. Viele der Tumorknoten gehen im Inneren in Nekrose über, die von Granulozyten abgeräumt wird. Die vitale Zellzone zwischen außenliegendem Stroma und zentraler Nekrose hat ziemlich konstant eine Breite von ca. 150 µm.

Die zwischen den Tumorzapfen verbliebenen Stromazwickel sind von einem sehr dichten entzündlichen Infiltrat - vornehmlich aus Lymphozyten und Plasmazellen - durchsetzt.

Autoradiographie: Die markierten Zellen sind im Tumorgewebe sehr ungleichmäßig verteilt. Arealen ohne Zellproliferation stehen solche mit deutlich erkennbarer ^3H -TdR-Inkorporation gegenüber. Hier liegen die markierten Zellen ausschließlich in einer äußeren stromanahen Zone der Tumorzapfen, innerhalb derer jedoch sowohl Markierungsindex als auch Silberkorndichte von außen nach innen jeweils rasch abfallen.

Das entzündliche Infiltrat zeigt keinen Einfluß auf die Proliferationsaktivität der Tumorzellen. Öfters beobachtet man markierte Zellen in direktem Kontakt mit Lymphozyten und Plasmazellen.

$$\overline{\text{TI}}_{\text{Tumor}} = 430/4920 = 8,7 \%$$

Auch das entzündliche Infiltrat ist deutlich markiert
($71/4635 = 1,5 \%$).

I. A) 338/1283

B) 398/1115

C) 75/ 334

D) 99/ 405

E) 9/ 42

F) 60/ 701

G) 9/ 191

H) 36/ 508

I) 27/ 133

J) 27/ 547

K) 530/1304

L) 18/ 128

M) 84/ 620

N) 28/ 218

O) 50/ 381

P) 17/ 200

Q) 219/ 915

R) 69/ 377

S) 73/ 271

T) 53/ 223

U) 98/ 242

V) 31/ 208

W) 113/ 929

X) 64/ 351

Y) 54/ 360

Z) 255/1201

II. 1-15) 50/ 385

L.L.: 2884/13572 = 21,2 %



1 mm

K.K. 55J.

Gyn 14

Pat.: K.K. 55 Jahre Gyn 14

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Die Portio ist in einen höckerigen Tumor umgewandelt. Tumoröse Infiltrate greifen allseits auf das Scheidengewölbe über. Das rechte Sakrouterinligament sowie das rechte kollumnahe Parametrium sind deutlich infiltriert. Vorbehandlung: 2 Tage vor Biop.: 42 MeV Betatron 250 R

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein etwa 5,5 x 3 mm messender Gewebsschnitt von der Portio uteri. Unter der teilweise von einem Fibrinschorf bedeckten vaginalen Oberfläche des Biopsiepräparates breitet sich ein zunächst solid wachsendes Plattenepithelkarzinom aus, das von mehreren Nekroseherden durchsetzt ist. Das Zellbild ist sehr polymorph mit ausgeprägten Kernatypien und Bildung zahlreicher Riesenzellen. Gegen die glatte Uterusmuskulatur hin zeigt das Karzinom eine zunehmend trabekuläre Wachstumsform. In den tieferen Lagen der Muskulatur schließlich liegen gut abgegrenzte Tumorzellkomplexe als Ausdruck einer Lymphangiosis carcinomatosa. Das fibromuskuläre Stroma ist größtenteils sklerosiert und locker von Entzündungszellen infiltriert. Viele dieser Zellen weisen starke regressive Veränderungen bis hin zur Kernpyknose auf. Nur stellenweise umgeben noch vitale lympho-plasmazelluläre Infiltrate die Tumorzellnester.

Autoradiographie: Der Tumor ist in seinen soliden Anteilen - bis auf einige epithelartige Partien - sehr schwach markiert. Gegen die Invasionsfront hin nimmt die Markierung zu und erreicht in einzelnen Lymphgefäßausgüssen Werte über 30 %. Dabei kann man beobachten, daß im gesamten Querschnitt dieser Mikrometastasen (Durchmesser bis zu 400 μ m) proliferierende Zellen zu finden sind. Die intensiv markierten Zellen liegen jedoch vornehmlich in der dem Stroma zugewandten Außenzone der Zellzapfen. Zum Zentrum hin nimmt die Silberkorndichte deutlich ab.

Das entzündliche Infiltrat bleibt ohne erkennbaren Einfluß auf die Tumorzellproliferation.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 2884/13572 = 21,2 \%$$

Das entzündliche Infiltrat ist unmarkiert (0/1901).

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

A)	7 / 54
B)	3 / 84
C)	9 / 169
D)	4 / 76
E)	47 / 227
F)	132 / 998
G)	1 / 92
H)	37 / 271
I)	71 / 532
J)	10 / 324
K)	1 / 106
L)	8 / 121
M)	166 / 852
N)	31 / 307
O)	4 / 119
P)	1 / 70
Q)	0 / 55
R)	4 / 84
S)	1 / 83
T)	8 / 156
U)	8 / 93
V)	15 / 133

W)	13 / 179
X)	7 / 63
Y)	3 / 34

L.L.: 591/5291 = 11,2 %



1 mm

V. A. 68J.

Gyn 18

Pat.: V.A. 68 Jahre Gyn 18

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Bei der rektovaginalen Untersuchung tastet man eine plumpe, klobige Portio. Das Scheidengewölbe ist palporisch frei. Das linke Parametrium stellt sich sulzig ödematisiert dar. Deutlich ist eine Infiltration des linken Sakrouterinligaments zu tasten. Bei der SpekulumEinstellung zeigt die Portio den typischen Schorf nach Konisation.

Vorbehandlung: 13 Monate vor Biop.: Konisation
2 Tage " " : ^{60}Co 250 R

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein ca. 10 x 3,5 mm großer Gewebsschnitt von der Portio. Eine Längsseite des gestreckten Präparats ist von einem dicken, schaumigen Fibrinschorf bedeckt. Darunter liegt lockeres fibromuskuläres Gewebe mit Anschnitten mehrerer thrombosierter Gefäße. In diesem Gewebe verstreut findet man - die Lymphspalten ausfüllend - Zellnester eines weitgehend entdifferenzierten Plattenepithelkarzinoms. Die Tumorzellen sind sehr polymorph mit großen chromatinreichen Kernen und intensiv gefärbtem Zytoplasma. Einige der Tumorzellkomplexe weisen starke regressive Veränderungen auf. Teilweise durchbricht das Karzinom das Endothel der Lymphgefäße und dringt in das Interstitium vor, das an diesen Stellen gering lympho-plasmazellulär infiltriert ist.

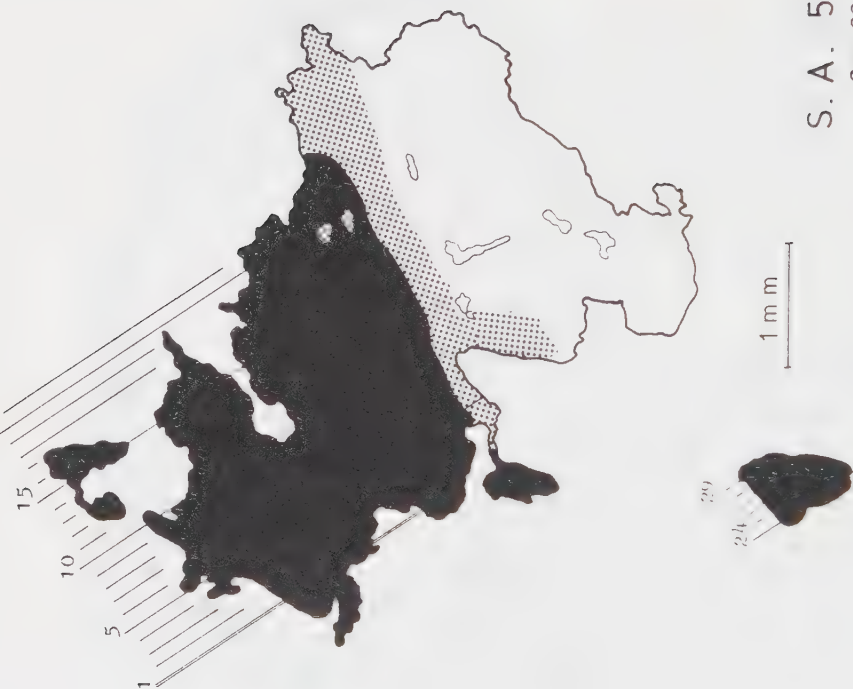
Autoradiographie: Die vitalen Anteile der Tumorzellzapfen zeigen deutlich folgendes Markierungsmuster: Die Anzahl der markierten Zellen ist in den äußeren, dem Stroma zugewandten Zellreihen am höchsten und fällt zum Zentrum der Zapfen hin deutlich ab. Einen gleichsinnigen Gradienten zeigt die Silberkorndichte der markierten Zellkerne. In den total ausgezählten kleinen Zellinseln erreicht der Markierungsindex Werte bis zu 20 %. Dabei sind Komplexe mit nekrotischen Bereichen ebenso hoch markiert wie jene ohne Zelluntergang.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 3591/5291 = 11,2 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	8/137	
2)	11/155	
3)	13/185	
4)	25/246	
5)	39/235	
6)	29/265	
7)	55/305	
8)	42/304	
9)	27/205	
10)	29/208	
11)	43/240	
12)	29/245	
13)	58/331	
14)	44/317	
15)	23/201	
16)	16/179	22) 4/ 72
17)	14/115	23) 12/ 85
18)	10/ 91	24) 6/ 82
19)	5/ 68	25) 18/106
20)	7/ 80	26) 18/ 82
21)	10/ 56	27) 9/ 56

L.I.: 604/4651 = 13 %



S. A. 56J.
Gyn 22

Pat.: S.A. 56 Jahre Gyn 22

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Bei der SpekulumEinstellung zeigt sich die Portio umgewandelt in einen exophytisch wachsenden Tumor, der nach links hin das Parametrium erfaßt, rechts etwas auf die Scheide übergreift und auch den Parametrienansatz erfaßt. Beidseits ist jedoch zwischen Tumor und Beckenwand freier Raum.

Vorbehandlung: 3 Tage vor Biop.: ^{60}Co 250 R
1 Tag " " : " "

Histologie: Eine Hälfte des etwa 4,5 x 3 mm messenden Präparats wird eingenommen von einer dichten, strukturlosen Karzinomzellmasse. Die Tumorzellen sind sehr polymorph mit großen blassen, zum Teil stark ballonierten Kernen. Nur an einer Stelle deutet sich geringe Hornbildung an. Das Tumorgewebe enthält so gut wie keine Stromaanteile (carcinoma medullare). Am apikalen Ende des Präparates sind zwischen die Tumorzellen Ballen hyalinen Materials eingelagert.

Die andere Hälfte des Schnittes zeigt durchflochtene Bündel glatter Muskulatur, die von zahlreichen Gefäßen durchzogen werden. An der Grenze zwischen Karzinom und glatter Muskulatur liegt bandförmig ein dichtes Infiltrat vorwiegend aus Plasmazellen und kleinen Lymphozyten. Stellenweise wandern Entzündungszellen in die angrenzenden Tumorteilchen ein.

Autoradiographie: Die markierten Zellen sind über die ganze Tumormasse verstreut. Es fällt auf, daß die stark markierten Zellen vor allem an den Rändern des Präparates, aber auch im Bereich der Invasionsfront des Tumors zu finden sind. Gegen das Zentrum der soliden Tumormasse fällt die Silberkorndichte sehr stark ab. Auch in der Umgebung der hyalinen Einlagerungen findet eine lebhafteste ^3H -TdR-Inkorporation statt.

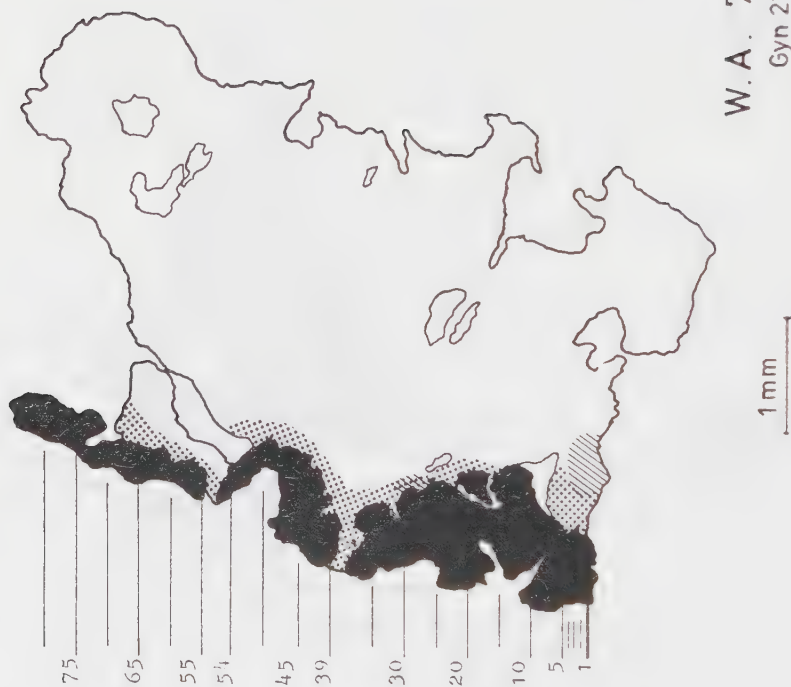
Die unmittelbare Nachbarschaft des entzündlichen Infiltrats bleibt ohne erkennbaren Einfluß auf die Tumorzellproliferation.

$$\overline{\text{TI}}_{\text{Tumor}} = 604/4651 = 13,0 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1-5)	109/ 742
6-10)	77/ 427
11-15)	136/ 813
16-20)	139/ 921
21-25)	96/ 924
26-30)	79/ 796
31-35)	194/ 876
36-38)	59/ 311
39-45)	212/1311
46-50)	85/ 531
51-54)	66/ 258
55-60)	43/ 381
61-65)	34/ 284
66-70)	40/ 302
71-75)	65/ 405
76-81)	52/ 426

L.I.: 1486/9708 = 15,3 %



W.A. 77J.
Gyn 23

Pat.: W.A. 77 Jahre

Gyn 23

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Vagina (der Portio ?)

Klinischer Befund: Die Vagina schließt nach 4 cm blind. Bei der SpekulumEinstellung sieht man im Bereich der hinteren Vaginalwand einige flache, auf Berührung leicht blutende Gewebsirregularitäten.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein etwa 5,5 x 4 mm messender Gewebsschnitt aus der Vaginalwand. Man erkennt an einer Seite des Präparats das Oberflächenepithel der Vagina. Dieses zeigt das Bild eines gesteigert atypischen Epithels mit unregelmäßiger Verdickung und sehr polymorphen Zellkernen in allen Schichten (carcinoma in situ). Die Basalmembran ist überall intakt, jedoch durch plumpe Zellzapfen an mehreren Stellen gegen das subepitheliale Bindegewebe vorgewölbt.

In dem stark dysplastischen Epithel lassen sich mehrere Herde von myxomatöser Degeneration nachweisen. Zur Oberfläche hin kommen, regellos verstreut, einzelne verhornende Zellen zur Darstellung.

Ein schütteres lympho-plasmazelluläres Infiltrat mit relativ vielen eosinophilen Granulozyten grenzt das carcinoma in situ gegen das subepitheliale Bindegewebe ab.

Autoradiographie: Die Autoradiographie zeigt zunächst, wie im normalen Epithel, eine basale, 2-3 Zellagen dicke, intensiv markierte Zone. Anders als im regulären Plattenepithel aber, kommen proliferierende Zellen locker verstreut auch in allen anderen Schichten bis an die Oberfläche des atypischen Epithels vor. Selbst einzelne Zellen, die im Zytoplasma eine deutliche Ablagerung von Hornmaterial erkennen lassen (PAS - Färbung), sind noch in der Lage ^3H -TdR zu inkorporieren. Gleiches gilt für Zellen mit myxomatöser Degeneration.

$$\overline{\text{LI}} \text{ carcinoma in situ} = 1486/9708 = 15,3 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	6/114	23)	9/ 98
2)	7/122	24)	8/127
3)	7/128	25)	9/119
4)	2/104	26)	9/127
5)	3/ 85	27)	8/ 87
6)	6/105		
7)	5/124		
8)	8/107		
9)	7/137		
10)	4/121		
11)	2/123		
12)	5/125		
13)	7/163		
14)	10/179		
15)	5/140		
16)	10/162		
17)	14/133		
18)	9/ 93		
19)	7/108	28)	3/ 81
20)	4/ 74	29)	1/ 78
21)	8/101	30)	1/ 55
22)	2/ 69	31)	1/ 47

L.T.: 187/3436 = 5,4 %



1 mm

L.A. 76J.
Gyn 25

Pat.: L.A. 76 Jahre Gyn 25

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Man tastet an Stelle der Portio einen Exophyten, der allseits auf das Scheidengewölbe übergreift. Bei der rektalen Untersuchung ist das Collum plump aufgetrieben, das rechte Sakrouterinligament sowie das collumnahe Parametrium deutlich infiltriert. Links bestehen ebenfalls Infiltrationen, die jedoch, wie rechts, die Beckenwand nicht erreichen.

Vorbehandlung: 5 Tage vor Biop.: ^{60}Co 250 R
4 " " " : " "

Histologie: Der histologische Schnitt zeigt einen ca. 10 mm langen und 2 mm breiten Gewebszylinder, der aus der glatten Muskulatur der Portio mit reichlich interstitiellem Bindegewebe besteht. An einem Ende des Zylinders liegen zwischen den Muskelbündeln Nester und Zapfen eines ausreifenden Plattenepithelkarzinoms. Die Tumorzellen sind sehr polymorph mit ausgeprägten Kernatypien. An mehreren Stellen kommt es zur Bildung geschichteter Hornperlen. Das die Tumorballen umgebende Stroma ist stark von Plasmazellen und Lymphozyten infiltriert, die jedoch vielfach die Zeichen des Zelluntergangs (Kernpyknose und Karyorhexis) zeigen.

Autoradiographie: Das Tumorgewebe ist sehr ungleichmäßig markiert. Neben größeren unmarkierten Partien findet man, regellos verstreut, kleine Herde, wo mehrere markierte Zellen in Gruppen zusammenliegen. ^3H -TdR-Inkorporation läßt sich auch dort beobachten, wo Krebszellen unmittelbar in Berührung mit dem entzündlichen Infiltrat stehen. Auffällig ist die mit wenigen Ausnahmen ungewöhnlich niedrige Silberkorndichte im Autoradiogramm.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 187/3436 = 5,4 \%$$

Die Zellen des entzündlichen Infiltrats sind nicht markiert.

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

A)	33/ 145
B)	179/ 808
C)	402/1527
D)	5/ 30
E)	34/ 233
F)	80/ 446
G)	132/ 719
H)	232/1085
I)	13/ 66
K)	63/ 195
L)	148/ 571
M)	60/ 256
N)	53/ 215
O)	90/ 438
P)	102/ 503
Q)	80/ 372
R)	156/ 564
S)	109/ 349

L.I.: 1971/8522 = 23,1 %



1 mm

H.R. 64J.
Gyn 27

Pat.: . H.R.. 64 Jahre

Gyn 27

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Bei der rektovaginalen Untersuchung tastet man eine teilweise tumorös umgewandelte Portio. Das linke Parametrium ist frei, das rechte im Ansatz infiltriert.

Vorbehandlung: 2 Tage vor Biop.: 42 MeV Betatron 250 R

Histologie: Der etwa 5,5 x 1,5 mm große histologische Schnitt zeigt ein kurzes Stück der Portiooberfläche und anhängend reichlich glatte Muskulatur des Muttermundes. Die Portio trägt ein karzinomatös umgewandeltes Plattenepithel, das an einer Stelle zapfenförmig in einen subepithelialen Lymphspalt vorwuchert. In der Tiefe der glatten Muskulatur findet man noch zahlreiche weitere zentral verhornende Tumorknoten, die im Sinne einer Lymphangiosis carcinomatosa die Lymphbahnen ausgießen, teilweise aber auch deren Endothel durchbrechen und in die umliegende Muskulatur vorwuchern. Das Gewebe um die Karzinomzapfen herum ist zum Teil dicht entzündlich infiltriert, wobei Lymphozyten und Plasmazellen vorherrschen. Große Partien des Infiltrats weisen stark regressive Zellveränderungen bis hin zur Nekrose auf.

Autoradiographie: In allen dargestellten Tumorzapfen findet sich eine auffallend hohe Markierungsdichte, die Werte bis zu 32 % markierte Zellen erreicht. Selbst eindeutig verhornte Zellen im Inneren der Knoten lassen oft noch eine ^3H -TdR-Inkorporation erkennen. Jedoch fällt die Anzahl der Silberkörner pro markiertem Zellkern von den stromanahen Außenschichten zum Zentrum hin stark ab.

Die unmittelbare Nachbarschaft zum entzündlichen Infiltrat zeigt keinen Einfluß auf die Proliferationsaktivität des Tumorgewebes.

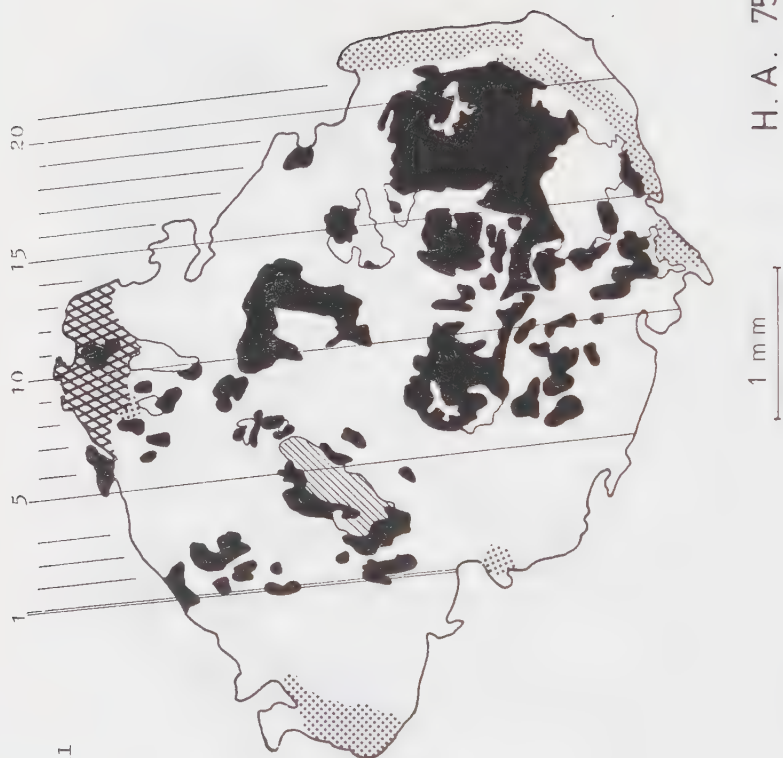
$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 1971/8522 = 23,1 \%$$

Die Entzündungszellen sind unmarkiert.

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

- 1) 19/202
- 2) 11/151
- 3) 42/186
- 4) 9/127
- 5) 14/ 64
- 6) 35/187
- 7) 32/212
- 8) 30/217
- 9) 45/286
- 10) 50/283
- 11) 38/262
- 12) 43/397
- 13) 39/283
- 14) 37/240
- 15) 38/182
- 16) 12/135
- 17) 38/239
- 18) 28/240
- 19) 60/271
- 20) 54/234
- 21) 47/167

L.I.: $721/4565 = 15,8\%$



H. A. 75J.
Gyn 31

Pat.: H.A. 75 Jahre

Gyn 31

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Unmittelbar hinter dem Introitus kommt man bei der digitalen Untersuchung auf zirkulär verlaufende, an der rechten Seitenwand der Vagina oberflächlich gelegene Gewebemassen, die das Septum rectovaginale massiv infiltrieren. In beiden Leisten tastet man große, rosenkranzartig angeordnete Lymphknotenmetastasen.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Der zur Untersuchung gelangende Gewebsschnitt der Portio mißt etwa 4,5 x 3 mm. An einer Stelle erkennt man im Präparat ein kurzes Stück der Portiooberfläche, die von einem dicken Fibrinschorf bedeckt ist. Darunter liegt, stellenweise von einem ödematös aufgelockerten Granulationsgewebe durchsetzt, eine breite Schicht glatter Muskulatur. Deren Lymphspalten sind ausgegossen von unregelmäßigen Nestern eines Plattenepithelkarzinoms. Der Tumor besteht aus relativ gleichförmigen Zellen ohne stärkere Kernatypien, die nur ganz vereinzelt eine beginnende Verhornung erkennen lassen. Viele der größeren Tumorzapfen gehen zentral in Nekrose über. Nur in kurzen Abschnitten ist noch intaktes Lymphendothel erhalten, dazwischen wuchert das Karzinom plump in das Interstitium vor.

Autoradiographie: Der Tumor zeigt eine regional sehr unterschiedliche Markierungsdichte. Neben beinahe unmarkierten Herden sieht man stark proliferierende Areale. Einige davon zeigen ein für Plattenepithelien typisches Markierungsmuster mit dicht markierten Zellen in der stromanahen Außenzone der Tumorzapfen und einem starken Abfall von LI und Silberkorndichte zum Zentrum hin. Andere, mehr undifferenzierte Anteile sind dagegen gleichmäßig markiert mit hoher Silberkorndichte auch im Inneren der Knoten. Dabei liegen DNS-synthetisierende Zellen teilweise unmittelbar am Rand der Nekrose.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 721/4565 = 15,8 \%$$

Auffallend ist die hohe Markierung in den Herden von Granulationsgewebe ($88/1094 = 8,0 \%$).

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

I. A)	53/284
B)	92/453
C)	159/653
D)	22/ 79
E)	84/401
F)	112/561
G)	81/376
H)	58/265
I)	168/829
K)	44/193
L)	94/370

II. 1)	42/200
2)	23/222
3)	47/240
4)	47/237
5)	44/219
6)	57/217
7)	121/420
8)	52/224
9)	62/291
10)	61/244

11)	58/181
12)	47/211

L.I.: 1628/7390 = 22 %



F.M. 64J.
Gyn 32

Pat.: F.M. 64 Jahre

Gyn 32

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Die Portio ist umgewandelt in einen höckerigen Tumor, der allseits auf das Scheidengewölbe übergreift. Rechts tastet man eine fächerförmige Infiltration bis nahe zur Beckenwand, links perlschnurartige Infiltrationen, die bis zur Beckenwand reichen und mit dieser fest verlötet sind.

Vorbehandlung: 3 Tage vor Biop.: ^{60}Co 250 R
2 " " " : " "

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein etwa 9 x 4,5 mm messender Gewebsschnitt von der Portio uteri. Er ist völlig durchsetzt von breiten Bändern und Zapfen eines ausreifenden Plattenepithelkarzinoms. Die Tumorzellen sind nur mäßig polymorph mit großen, schwach basophilen Kernen und deutlich hervortretendem Nukleolus. An vielen Stellen im Tumor kommt es zur Bildung geschichteter Hornperlen. Die nur noch spärlich erhaltenen Reste des fibromuskulären Stromas sind in weiten Teilen locker mononukleär infiltriert. Das Tumorbett, wie auch das Tumorgewebe selbst, sind auffallend gut vaskularisiert. Allerdings zeigen sämtliche Gefäße eine starke Hyalinose der Wand, die stellenweise bis zur völligen Verödung des Lumens führt.

Autoradiographie: Das Karzinomgewebe ist in allen Abschnitten deutlich markiert. Der Markierungsindex und die Silberkorndichte fallen von den basalen, stromanahen Zellschichten der Tumorzapfen zum oft verhornenden Zentrum hin deutlich ab. Die den arteriosklerotisch veränderten Tumorgefäßen unmittelbar anliegenden Zellreihen lassen keine gesteigerte Proliferationsaktivität erkennen. Andererseits inkorporieren auch Zellen um die verödeten Gefäßlumina herum weiterhin ^3H -TdR.

Der durch Totalauszählung bestimmte LI kleiner Tumornester liegt mit 21,7 % in der gleichen Größenordnung wie der Durchschnitt des Gesamtpräparates.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 1628/7390 = 22,0 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

I. A) 87/331
B) 11/163
C) 37/143
D) 22/169
E) 10/113
F) 33/126
G) 175/664

II. 1) 20/124
2) 27/175
3) 19/180
4) 27/214
5) 23/210
6) 38/226
7) 19/ 89
8) 25/150
9) 37/250
10) 28/260
11) 34/239
12) 66/446

13) 49/371
14) 54/271

L.I.: $841/4914 = 17,1 \%$



H.T. 74J.
Gyn 35

Pat.: H.T. 74 Jahre Gyn 35

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Portio

Klinischer Befund: Die Portio, besonders deren ventrale Anteile, sind umgewandelt in weißlich bröckeliges Gewebe. Bei der rektovaginalen Untersuchung erscheint das Parametrium rechts frei, links etwas induriert.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein ca. 5 x 4 mm mes-sender Gewebeschnitt von der Portio uteri. Nur ein kurzes Stück der Portiooberfläche ist im Präparat getroffen. Sie trägt ein karzinomatös umgewandeltes Plattenepithel. Die darunter liegende glatte Muskulatur wird durchwachsen von zahlreichen unregelmäßigen Nestern eines Plattenepithelkarzinoms. Die Tumorzellen sind mäßig polymorph mit schwach basophilen Kernen und deutlich erkennbarem Nukleolus. Nur an wenigen Stellen zeigt das Karzinom eine beginnende Differenzierung in Form einer Einzelzellverhornung. Um die Tumorzapfen herum ist das Stroma von einem dichten lympho-plasmazel-lulären Infiltrat durchsetzt.

Autoradiographie: Das Tumorgewebe zeigt folgendes Markierungsmuster: Markierte Zellen finden sich nur in einer äußeren, dem Stroma zugewandten Zone der Karzinomzellnester. Innerhalb dieser Zone fällt die Silberkorndichte von außen nach innen zunehmend ab. Ganz schwach markierte Zellen finden sich schließlich noch bis zu einer Tiefe von 200 μ m von der Tumor-Stroma-Grenze an gerechnet. Beschränkt man die Auszählung des Markierungsindex ausschließlich auf diese Zone, so ergibt sich ein Wert von 21,9 % (375/1709). Unter Miteinbeziehung auch der zentralen Zellen findet man:

$$\overline{\text{TI}}_{\text{Tumor}} = 841/4914 = 17,1 \%$$

Die unmittelbare Nachbarschaft des entzündlichen Infiltrats, das selber auffallend hoch markiert ist (157/1435 = 10,9 %), zeigt keinen Einfluß auf die Proliferationsaktivität der Tumorzellen.

markierte Zellen / Gesamtzellzahl



I. A)	127/ 701
B)	147/ 762
C)	36/ 278
D)	73/ 716
E)	52/ 746
F)	69/ 478
G)	122/1174
H)	14/ 178

II. 1)	23/ 310
2)	31/ 223
3)	25/ 268
4)	35/ 221
5)	19/ 179
6)	22/ 177
7)	12/ 97
8)	22/ 124
9)	16/ 79
10)	14/ 87
11)	26/ 138
12)	20/ 114
13)	11/ 122

14)	8/ 102
15)	15/ 116
16)	17/ 115

L.I.: 956/7505 = 12,7 %

1 mm

S.F. 60J.
Gyn 17

Pat.: S.F. 60 Jahre Gyn 17

Diagnose: Adenokarzinom der Zervix (Corpus ?)

Klinischer Befund: Bei der SpekulumEinstellung zeigt sich die Portio nur noch teilweise originär Überhäutet. Neben Gewebsdefekten werden proliferierende Auflagerungen sichtbar. Bei der rektovaginalen Untersuchung ist die Portio palpatorisch ausgesprochen plump. Das Parametrium ist links bis an die Beckenwand infiltriert, rechts nur im Ansatz. Auch das linke Sakrouterinligament wird miteinbezogen.
Vorbehandlung: keine

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein ca. 14 x 3,5 mm großer Gewebsschnitt von der Portio uteri. An einer Stelle des Präparats ist ein kurzes Stück der vaginalen Oberfläche angeschnitten. Diese trägt ein schwer dysplastisches Plattenepithel. Darunter breitet sich die glatte Muskulatur des Uterus aus, in der reichlich Gefäße und Lymphspalten zu finden sind. Sie wird infiltriert von mehreren Zapfen eines ausreifenden Adenokarzinoms, das teils tubulär, teils papillär ausdifferenziert. An der Invasionsfront des Tumors ordnen sich die Zellkerne an manchen Abschnitten in Palisadenstellung an. An den Rändern des Präparats findet sich auf längere Strecken Tumorgewebe mit chromatinarmen, vakuolisierten Zellkernen ohne umgebendes Zytoplasma im Sinne einer intravital entstandenen Pränekrose.

Autoradiographie: Der Tumor proliferiert vornehmlich an der Invasionsfront in das Stroma. Hier liegen auch die Zellen mit der höchsten Silberkorndichte. Auch an einer Stelle, wo zwei Tumorknoten - nur durch eine schmale Stromabrücke getrennt - aneinanderliegen, findet man in den randständigen Zellagen eine Überdurchschnittlich hohe Markierung. Zum Zentrum der Zapfen hin nimmt der Markierungsindex wie auch die Silberkorndichte rasch ab. Die rein tubulär differenzierten Tumorateile sind schwächer markiert als die papillären.
Markierte Zellen lassen sich bis unmittelbar an die pränekrotische Zone heran nachweisen.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 956/7505 = 12,7 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	8/126	23)	5/ 80
2)	7/125	24)	6/ 83
3)	3/112	25)	6/120
4)	14/213	26)	3/ 86
5)	8/208	27)	8/ 78
6)	23/339	28)	3/ 27
7)	19/272	29)	3/ 43
8)	12/294		
9)	8/164		
10)	16/199		
11)	17/201		
12)	20/282		
13)	11/190		
14)	14/203		
15)	24/255		
16)	24/218		
17)	46/298		
18)	37/358		
19)	45/272		
20)	35/257		
21)	8/117		
22)	12/137		

L.I.: 445/5357 = 8,3 %



S. B. 71J.
Gyn 2

Pat.: S.B. 71 Jahre Gyn 2

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Vulva

Klinischer Befund: Im Bereich des linken Labium majus findet sich ein exophytisch wachsender Tumor von über 5-Mark-Stückgröße. Die Vulva zeigt Zeichen einer ausgeprägten Kraurosis. In der linken Leiste ist ein derber, wenig verschieblicher Lymphknoten tastbar.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Der etwa 13 x 6,5 mm große histologische Schnitt zeigt an einer Seite das stark verhornende Oberflächenepithel der Vulva. Dieses bricht unvermittelt ab und geht in ein Plattenepithelkarzinom über, das in Nestern und plumpen Zapfen in das subkutane Bindegewebe vorwuchert. Es ist an der Oberfläche hoch differenziert mit Bildung dicker, scholliger Hornmassen über einer nur schmalen Basalzellschicht. Zur Tiefe hin kommen dann zunehmend unreifere Tumorformationen zur Darstellung. Gegen das kollagene Bindegewebe der Subkutis sind normales Oberflächenepithel und Karzinom durch ein dichtes lympho-plasmazelluläres Infiltrat abgegrenzt.

Autoradiographie: Zellproliferation findet sich sowohl im normalen wie auch im karzinomatös umgewandelten Epithel nur in einer schmalen basalen Zone, während in höheren Schichten keine markierten Zellen beobachtet werden. Die Bestimmung des Markierungsindex beschränkt sich deshalb auf das Stratum basale und berücksichtigt nicht die eindeutig differenzierten Zellen. Als Unterscheidungskriterium diene der Nachweis intrazellulärer Hornbildung (PAS-Färbung) in den differenzierten Zellen.

In den Tumornestern der Invasionsfront wird zwar die Zone proliferationsfähiger Basalzellen deutlich breiter, der LI überschreitet jedoch nicht den Durchschnitt des Gesamtpräparates.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 445/5357 = 8,3 \%$$

In den undifferenzierten Schichten des normalen Plattenepithels findet man zum Vergleich einen LI von 6,4 % (45/1306). Auch das entzündliche Infiltrat zeigt mit 1,4 % (45/3154) eine deutliche Markierung.

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	2/122	
2)	3/199	
3)	8/273	
4)	5/177	
5)	21/265	
6)	16/338	
7)	14/306	
8)	22/324	
9)	22/365	
10)	24/339	
11)	11/267	
12)	14/216	
13)	4/122	
14)	7/129	
15)	9/201	
16)	6/191	22) 8/196
17)	11/284	23) 20/186
18)	8/140	24) 5/146
19)	3/ 95	25) 7/196
20)	8/ 61	26) 2/164
21)	18/175	27) 0/ 94

L.I.: 278/5571 = 5 %



Pat.: 8.T. 71 Jahre Gyn 8

Diagnose: Rezidivierendes Plattenepithelkarzinom der Vulva

Klinischer Befund: Im Bereich der hinteren Vulvakommissur findet sich ein schüsselförmiges Ulcus. Die rechten Leistensymphknoten tastet man deutlich vergrößert. Sie sind gegen die Unterlage nicht mehr verschieblich.

Vorbehandlung: 18 Monate vor Biop.: Vulva ⁶⁰Co 5200 R
Leisten " "
1 Jahr " " : Vulvektomie

Histologie: Auf dem etwa 7 x 5,5 mm großen histologischen Schnitt erkennt man ein zellarmes, stark fibroisiertes Bindegewebe, das durchsetzt ist von einem in Nestern und Zapfen wachsenden Plattenepithelkarzinom. Die Tumorzellen sind gering polymorph und besitzen einen kleinen, sehr chromatinreichen Kern. Der Tumor zeigt einen hohen Differenzierungsgrad mit Ansammlung scholliger Hornmassen im Zentrum der Zapfen. Zum umgebenden Gewebe hin finden sich, endophytisch in die Tiefe wuchernd, zunehmend unreifere Zellverbände.

Autoradiographie: Das Tumorgewebe weist - bei technisch einwandfreier Darstellung - die niedrigste Proliferationsaktivität aller in dieser Arbeit untersuchten Plattenepithelkarzinome von Vulva und Portio auf.

Der Tumor ist in allen dargestellten Anteilen markiert. Die proliferierenden Zellen finden sich ausschließlich in den undifferenzierten äußeren Zellagen der Tumorzapfen. In den Tumornestern der Invasionsfront liegt der Markierungsindex deutlich über dem Durchschnitt des Gesamtpräparates.

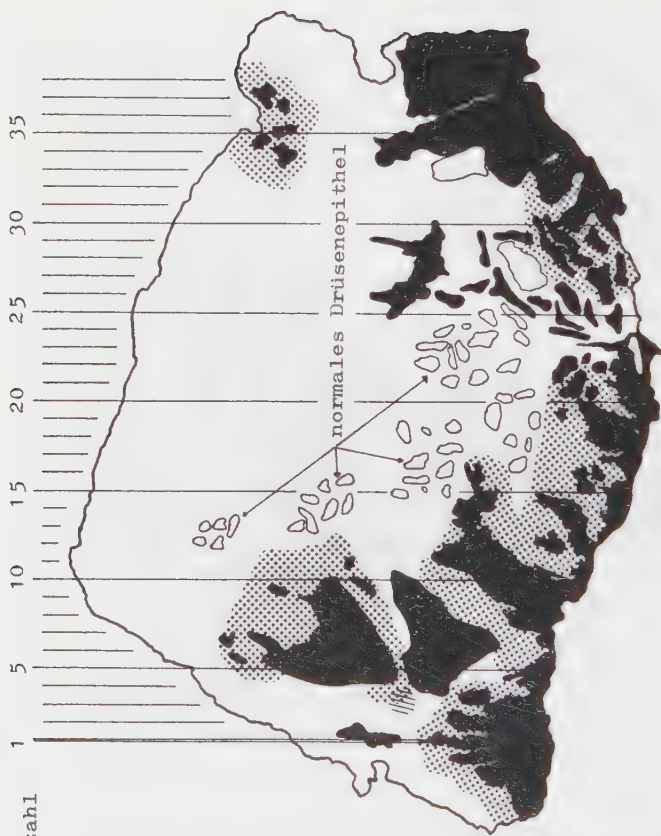
$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 278/5571 = 5,0 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	5/ 70	23)	24/117
2)	3/ 41	24)	17/ 78
3)	7/ 78	25)	12/ 77
4)	10/ 84	26)	14/101
5)	14/168	27)	16/121
6)	16/149	28)	20/104
7)	10/105	29)	17/ 97
8)	15/158	30)	10/105
9)	14/153	31)	6/ 79

10)	17/159	32)	16/129
11)	13/ 90	33)	10/122
12)	7/ 94	34)	10/159
13)	8/135	35)	11/ 91
14)	13/125	36)	4/ 62
15)	15/131	37)	3/ 57
16)	9/ 71	38)	6/ 60
17)	10/ 45		
18)	6/ 46		
19)	8/ 76		
20)	20/ 96		
21)	5/ 42		
22)	19/ 70		

L.I.: 440/3739 = 11,8 %



1 mm

E.E. 63J.
Gyn 9

Pat.: E.E. 63 Jahre Gyn 9

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Vulva

Klinischer Befund: 2 Jahre nach einer Elektroresektion der Vulva finden sich im Bereich der Abtragungsstelle atypische Granulationen und derbe Infiltrate.

Vorbehandlung: 2 Jahre vor Biop.: Vulvektomie

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein etwa 7 x 5 mm grosser Gewebsschnitt von der Vulva. Eine Seite des Präparats zeigt oberflächlich den Anschnitt eines verhornenden Epithels, das auf eine längere Strecke ulzeriert ist. Dieses Epithel läßt deutlich karzinomatöse Veränderungen erkennen. Von seiner Basis aus wuchern Krebszellen in plumpen Zapfen gegen das subepitheliale Bindegewebe vor. Zur Tiefe hin werden die tumorösen Zellkomplexe zunehmend unreifer und zeigen ein fein dissoziierendes Wachstum. Gegen das umgebende Stroma, in dem sich viele seröse Drüsentubuli finden, ist der Tumor durch ein dichtes lympho-plasmazelluläres Infiltrat abgegrenzt.

Autoradiographie: Die Autoradiographie läßt deutliche Unterschiede im Proliferationsmuster zwischen reifen und unreifen Tumorpartien erkennen. In den differenzierten Arealen findet sich nur eine schwache Markierung mit niedriger Silberkorn-dichte, die sich zudem auf eine schmale stromanahe Zellschicht beschränkt. Demgegenüber zeigen entdifferenzierte Bereiche eine relativ hohe und intensive Markierung. Dieses Phänomen wird vor allem an den Stellen deutlich, wo sich verhornte Tumorzapfen in verwilderte Zellnester aufsplintern.

Das entzündliche Infiltrat läßt keinen Einfluß auf die Proliferationsaktivität der Tumorzellen erkennen. Teilweise finden sich markierte Zellen in unmittelbarer Nähe von Entzündungszellen.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 440/3739 = 11,8 \%$$

Auch das entzündliche Infiltrat zeigt eine deutliche Markierung (60/4010 = 1,5 %).

H.T. 71J.
Gyn21



markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	18/ 55		
2)	13/ 67		
3)	35/119		
4)	26/131		
5)	35/158		
6)	34/154		
7)	31/121		
8)	33/155		
9)	11/ 64		
10)	15/ 39	23)	42/250
11)	10/ 50	24)	51/254
12)	8/ 58	25)	53/292
13)	5/ 45	26)	46/287
14)	6/ 34	27)	30/211
15)	3/ 28	28)	20/145
16)	8/ 33	29)	19/164
17)	12/ 59	30)	19/165
18)	21/108	31)	5/ 94
19)	52/218	32)	6/ 85
20)	52/227	33)	10/ 84
21)	49/199	34)	5/ 51
22)	55/218		

1.1.: 838/4422 = 19 %

Pat.: H.T. 71 Jahre Gyn 21

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Vulva

Klinischer Befund: Im Winkel zwischen Urethralmündung und Klitoris finden sich deutliche Infiltrate, die auch auf das Labium minus links übergreifen. In den beiden Leisten sind kleine, miteinander verbackene Lymphknoten zu tasten.

Vorbehandlung: 11 Tage vor Biop.: ^{60}Co 250 R
9 " " " : " "
7 " " " : " "

Histologie: Der etwa 8 x 5 mm messende histologische Schnitt besteht überwiegend aus einem zellreichen, lockeren Bindegewebe. In diesem verstreut liegen kleine, undifferenzierte Zellinseln eines fein dissoziierend wachsenden Plattenepithelkarzinoms. Das Zellbild ist ausgesprochen polymorph mit stark ausgeprägten Kernatypien und reichlich Zytoplasma. Nur in einem kleinen, randständigen Bereich des Präparats, offenbar der Oberfläche entsprechend, zeigt das Tumorgewebe stellenweise noch eine deutliche Plattenepithelschichtung und beginnende Verhornung. Zwischen den Tumorzellkomplexen ist das Gewebe von einem dichten lympho-plasmazellulären Infiltrat durchsetzt.

Autoradiographie: Der Tumor ist sehr gleichmäßig markiert. In den wenigen soliden, teils differenzierten Partien findet sich ein Markierungsmuster angedeutet, wie es vom normalen Plattenepithel her bekannt ist: Die dicht markierten Zellen liegen fast ausschließlich in einer basalen, stromanahen Zone des Tumorgewebes. In den höheren Zellagen fallen Markierungsindex sowie Silberkorndichte jeweils rasch ab. Überwiegend wird das autoradiographische Bild jedoch von den dicht markierten, " heißen " Tumornestern bestimmt, die auch in unmittelbarer Berührung mit dem entzündlichen Infiltrat keine Abnahme der Proliferationsaktivität erkennen lassen.

$$\overline{\text{I}}_{\text{Tumor}} = 838/4422 = 19,0 \%$$

Das lympho-plasmazelluläre Infiltrat weist einen Markierungsindex von 1,8 % (84/3645) auf.

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

I. A)	6/ 35	II. 1)	15/191
B)	7/ 37	2)	25/258
C)	31/165	3)	11/176
D)	3/ 32	4)	22/217
E)	12/ 96	5)	14/202
F)	17/ 70	6)	37/404
G)	5/ 47	7)	22/289
H)	17/107	8)	19/350
I)	2/ 93	9)	41/498
K)	10/ 82	10)	19/350
L)	14/ 86	11)	37/464
M)	14/169	12)	31/439
N)	4/ 47	13)	38/494
O)	13/146	14)	55/507
P)	21/100	15)	53/531
Q)	11/ 89	16)	33/462
R)	6/ 37	17)	42/333
S)	7/140	18)	46/431
		19)	20/243
		20)	8/ 87
		21)	9/ 93
		22)	11/112
		23)	8/ 75
		24)	4/ 83
		25)	3/ 58
		26)	4/ 25
		27)	7/ 47

L.I.: 834/8997 = 9,3%



S.T. 73J.
Gyn 24

Pati.: S.T. 73 Jahre Gyn 24

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Vulva

Klinischer Befund: Die Vulva weist typische kraurotische Veränderungen auf. Im Bereich der kleinen Labien erkennt man mehrere, flach exophytisch wachsende Tumoren. Die Lymphknotenregionen sind frei.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Der ca. 6,5 x 5 mm große Schnitt zeigt auf einer Seite ein ausgedehntes, stark verhornendes Plattenepithelkarzinom mit oberflächlicher Ulzeration. Oberflächennahe Teile erscheinen als mehr zusammenhängender, kompakter Tumorgewebsverband mit ausgeprägter Hornperlenbildung. In die Tiefe setzen sich spinozelluläre Zellnester mit starker Einzelzellverhornung endophytisch ab. Die am weitesten vorgeschobenen Teile weisen auch zunehmend unreifere Tumorstrukturen auf. Gegen das lockere kollagene Bindegewebe der Subkutis ist das Karzinom durch ein stellenweise dichtes lympho-plasmazelluläres Infiltrat abgegrenzt.

Autoradiographie: Der Tumor ist in allen Anteilen markiert. Die differenzierten Tumorzapfen zeigen ein Markierungsmuster, wie es vom normalen Plattenepithel her bekannt ist, d.h. markierte Zellen finden sich ausschließlich in den basalen, an das Stroma grenzenden Zellschichten, während die differenzierten Zellen im Inneren der Zapfen keine Markierung aufweisen. Nur in den unreiferen, nicht verhornenden Tumornestern der Invasionsfront sieht man auch zentral liegende proliferierende Zellen. Durch Totalauszählung einzelner dieser Zellkomplexe läßt sich zeigen, daß in ihnen der Markierungsindex über dem Durchschnitt des Gesamtpräparates liegt (12,7 %). Die Bestimmung des Markierungsindex beschränkt sich auf die (in der PAS-Färbung erkennbar) unverhornten Zellagen.

$$\overline{\text{TI}}_{\text{Tumor}} = 834/8997 = 9,3 \%$$

Auch das entzündliche Infiltrat zeigt vereinzelt markierte Zellen, darunter auch Plasmazellen (41/4065 = 1,0 %).

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

- 1) 15/117
- 2) 14/160
- 3) 9/134
- 4) 10/151
- 5) 27/223
- 6) 22/244
- 7) 30/284
- 8) 41/338
- 9) 33/314
- 10) 42/319
- 11) 32/309
- 12) 22/272
- 13) 23/300
- 14) 39/306
- 15) 25/205
- 16) 32/248
- 17) 32/239
- 18) 43/290
- 19) 30/288
- 20) 17/230

L.I.: 538/4971 = 10,8 %



K.M. 79J.

Gyn 37

Pat.: K.M. 79 Jahre

Gyn 37

Diagnose: Plattenepithelkarzinom der Vulva

Klinischer Befund: Das große Labium links ist weitgehend umgewandelt in einen ulzerierenden Tumor, der bis in den Introitus vaginae hineinreicht. Die Leistenlymphknoten sind palpatorisch frei.

Vorbehandlung: 7 Jahre vor Biop.: lokale Exzision eines Vulvakarzinoms

Histologie: Der ca. 8 x 3,5 mm messende histologische Schnitt zeigt an einer Seite eine oberflächliche, mit Fibrin und Zelldetritus bedeckte Ulzeration. Darunter breitet sich in einem lockeren, zellreichen Bindegewebe ein Plattenepithelkarzinom aus. Die Tumorzellen sind relativ einheitlich mit großen, schwach basophilen Kernen und deutlichem Nukleolus. Während der Tumor oberflächennah ein annähernd solides Wachstum zeigt, splittet er sich zur Tiefe hin zunehmend auf und zeigt hier eine sehr fein trabekuläre Struktur.

In den noch erhaltenen Inseln des kollagenen Bindegewebes erkennt man eine lebhafte entzündliche Begleitreaktion.

Autoradiographie: Die Autoradiographie läßt eine regional sehr ungleichmäßige Markierung des Tumors erkennen. In den soliden Anteilen proliferiert der Tumor nur relativ gering. Die markierten Zellen liegen hier hauptsächlich in den Zellschichten unmittelbar unter dem Fibrinschorf. Eine Auszählung in diesem Bereich ergibt einen LI von 5,5 % (53/969). Demgegenüber finden sich in den fein trabekulären Strukturen, wo der Tumor in das Bindegewebe invadiert, Markierungsindices von 21,3 % (207/970) bzw. 26 % (255/980). In einem anderen Abschnitt des Tumorgewebes, der nicht unmittelbar der Invasionsfront anzugehören scheint, liegt der LI bei 6,6 % (71/1077). Den höchsten Wert mit 34,4 % (332/961) erreicht der Markierungsindex in einer umschriebenen oberflächennahen Tumorregion, die stark von Lymphozyten und Granulozyten durchsetzt ist.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 538/4971 = 10,8 \%$$

Auch das lympho-plasmazelluläre Infiltrat zeigt eine deutliche Markierung.



1 mm

S.M. 78J.
Gyn12

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	10/ 93	22)	32/ 884
2)	15/ 168	23)	25/ 881
3)	14/ 261	24)	25/ 813
4)	29/ 603	25)	24/ 784
5)	28/ 778	26)	23/ 787
6)	27/ 788	27)	20/ 793
7)	32/ 782	28)	20/ 803
8)	30/ 827	29)	20/ 802
9)	33/ 893	30)	21/ 837
10)	36/ 981	31)	22/ 864
11)	45/1051	32)	20/ 732
12)	36/1105	33)	13/ 558
13)	37/1019		
14)	36/ 960		
15)	30/1004		
16)	33/ 899		
17)	17/ 861		
18)	27/ 937		
19)	21/ 874		
20)	26/ 825		
21)	29/ 925		

L.I.: 856/26172 = 3,3 %

Pat.: S.M. 78 Jahre

Gyn 12

Diagnose: Malignes Melanom der Vulva

Klinischer Befund: Im Bereich der Klitoris findet sich ein gut pflaumengroßer Tumor von blau-schwarzer Farbe. An seiner Basis erkennt man einige spritzerförmige Pigmentationen.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Der etwa 3 x 5 mm messende histologische Schnitt zeigt auf etwas über der Hälfte seines Umfanges einen dünnen, oberflächlichen Fibrinschorf, der stark leukozytär durchsetzt ist. Darunter breiten sich die atypischen Zellen eines malignen Melanoms aus. Der Tumor wächst ausgesprochen medullär mit nur minimalem Stromaanteil. Unter dem bedeckenden Fibrinbelag ist das Tumorgewebe stark ödematös aufgelockert und von einzelnen aus Lymphozyten und Plasmazellen bestehenden Zellnestern durchsetzt. Herdförmig kommt es zur Ablagerung von feingranulärem, braunem Pigment. In der Tiefe des Melanoms stellt sich eine Insel verhornenden Plattenepithels dar, sowie in deren Nähe ein Pfropf von melanotischen Tumorzellen in einem Lymphgefäß.

Autoradiographie: Alle Anteile des Tumorparenchyms sind mit markierten Zellen durchsetzt. Im Zentrum des Präparates liegt die Silberkorndichte etwas niedriger als in der Peripherie. In den entzündlich aufgelockerten, oberflächennahen Bereichen ist der Markierungsindex deutlich höher als zur Tiefe hin. Eine Häufung markierter Zellen deutet sich auch um einzelne sinusoid erweiterte Gefäße herum an.

$$\overline{\text{I}}_{\text{Tumor}} = 856/26172 = 3,3 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

1)	7/ 97	23)	5/253
2)	3/ 95	24)	5/226
3)	2/ 47	25)	8/309
4)	3/ 76	26)	9/234
5)	2/ 81	27)	5/227
6)	7/194	28)	5/228
7)	9/246	29)	2/229
8)	4/208	30)	2/206
9)	2/235		
10)	4/202		
11)	7/267		
12)	8/236	31)	4/194
13)	3/250	32)	2/179
14)	7/171	33)	6/119
15)	5/218	34)	3/199
16)	6/262	35)	6/220
17)	6/305	36)	0/130
18)	8/275	37)	3/132
19)	15/293	38)	0/ 96
20)	7/299	39)	2/ 90
21)	11/204	40)	0/ 93
22)	11/202	41)	1/ 95

L.I.: 205/7922 = 2,6 ‰



K-B. F. 74J.
Gyn 19

Pat.: K.-B.F. 74 Jahre Gyn 19

Diagnose: schleimbildendes Adenokarzinom der Mamma

Klinischer Befund: Im oberen inneren Quadranten der rechten Brust findet sich ein mehr als walnußgroßer, derber, unregelmäßiger, zum M. pectoralis jedoch gut verschieblicher Knoten. In der Axilla sind keine Resistenzen tastbar.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Zur Untersuchung gelangt ein ca. 10 x 4,5 mm messender Gewebsschnitt von der Mamma. Man erkennt im histologischen Präparat ein infiltrierend wachsendes Adenokarzinom. Im Zentrum weist der Tumor eine ausgeprägte produktive Fibrose mit starken regressiven Veränderungen auf. Eingebettet zwischen die faserreichen Bindegewebszüge liegen kleine, vorwiegend solide gebaute Karzinomzellnester. Stellenweise deutet sich im Tumorgewebe eine tubuläre Differenzierung an. In den Randausläufern des Tumors kommen Herde schleimbildender Zellen mit typischer Siegelringform zur Darstellung. Das angrenzende Fettgewebe wird von Tumorinseln durchsetzt und ist an diesen Stellen locker entzündlich infiltriert.

Autoradiographie: Die markierten Zellen sind zufällig in den Tumorzellnestern verstreut. Dort, wo das Karzinom in das Fettgewebe einbricht, ist der Markierungsindex stellenweise höher als im Durchschnitt des Gesamtpräparates. Nur ganz vereinzelt können auch markierte schleimbildende Zellen beobachtet werden.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 205/7922 = 2,6 \%$$

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

- 1) 1/211
- 2) 0/128
- 3) 0/107
- 4) 3/186
- 5) 7/335
- 6) 7/336
- 7) 3/306
- 8) 8/466
- 9) 6/329
- 10) 3/366
- 11) 6/463
- 12) 8/456
- 13) 4/437
- 14) 6/329
- 15) 4/264
- 16) 3/289
- 17) 9/219
- 18) 4/278
- 19) 3/288
- 20) 4/254
- 21) 3/252
- 22) 2/183

L.1.: 94/6482 = 1,5 %



1 mm

E.M. 66J.
Gyn 20

Pat.: E.M. 66 Jahre

Gyn 20

Diagnose: Adenokarzinom der Mamma

Klinischer Befund: Retromamillär im oberen äußeren Quadranten der rechten Mamma findet sich ein gegen die Unterlage gut verschieblicher, walnußgroßer Knoten. Die Axilla ist palpatorisch frei.

Vorbehandlung: keine

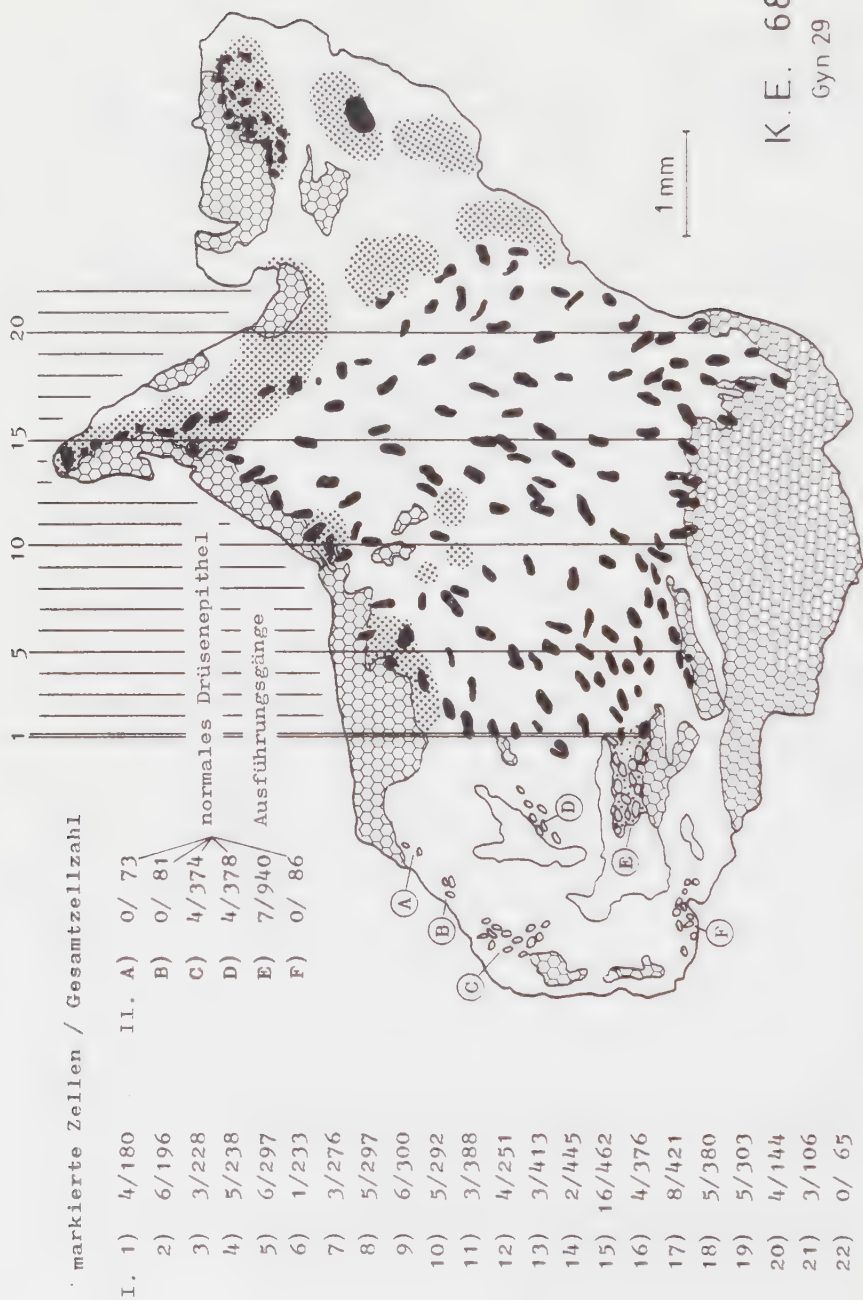
Histologie: Zur histologischen Beurteilung gelangt ein etwa 11,5 x 4 mm messender Gewebsschnitt der Mamma. Man erkennt im Präparat ein vorwiegend tubulär, stellenweise aber auch kribri-form ausreifendes Adenokarzinom mit einer vor allem im zentralen Bereich stark ausgeprägten produktiven Fibrose des Stromas. Das umliegende Fettgewebe wird vom Tumor zum Teil in kleinen, unreifen Zellnestern infiltriert. Hier kommt es zu einer schüttereren lympho-plasmazellulären Begleitreaktion.

Die im Schnitt erfaßten Drüsenausführungsgänge der Mamma sind zum Teil ektatisch, zum Teil von einer dichten periduktalen Fibrose - im Sinne eines intrakanalikulären Fibroadenoms - eingeengt.

Autoradiographie: Die Autoradiographie zeigt einzelne, intensiv markierte Zellen zufällig über das ganze Tumorparenchym verstreut. Die Zunahme des Markierungsindex gegen die Invasionsfront des Tumors ist nicht nachweisbar.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 94/6282 = 1,5 \%$$

K.E. 68J.
Gyn 29



L.I.: 101/6291 = 1,6 %

Pat.: K.E. 68 Jahre

Gyn 29

Diagnose: Adenokarzinom der Mamma

Klinischer Befund: Zwischen dem unteren und oberen äußeren Quadranten der rechten Brust findet sich ein kastaniengroßer, unregelmäßiger, von der Umgebung schlecht abgrenzbarer Knoten. Darüber ist deutlich eine Orangenhaut ausgebildet. In der rechten Axilla läßt sich ein etwa bohngroßer Lymphknoten tasten.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Der etwa 10 x 5 mm große histologische Schnitt zeigt ein stark dissozzierend wachsendes Mammakarzinom, das in schmalen Balken und Nestern das kollagene Bindegewebe infiltriert und in das Fettgewebe einbricht. Eingestreut zwischen die Tumornester findet man immer wieder Karzinomanteile, die in Form eines carcinoma in situ lobulare ausschließlich auf die Drüsenendstücke beschränkt sind. Beide Strukturen lassen sich in der PAS-Färbung eindeutig voneinander abgrenzen. Im Gegensatz zum infiltrierenden Karzinom sind die Zellkomplexe des carcinoma in situ von einer intakten Basalmembran umgeben und zeigen keine Glykogenspeicherung im Zytoplasma (PAS-Färbung).

An einer Stelle sind zusammengelagerte kleine Drüsenausführungsgänge mit einem hoch aufgebauten Epithel angeschnitten. Sie sind von einem sehr dichten plasmazellulären Infiltrat umgeben.

Autoradiographie: Im Autoradiogramm findet man die markierten Zellen vor allem an der Invasionsfront des Tumors. Zum Zentrum hin nimmt der Markierungsindex sehr rasch ab. Gleiches gilt für die Silberkorndichte, die in der Tumorperipherie hoch ist, gegen die Tiefe zu aber - bis auf einzelne hoch markierte Zellen - stark abfällt.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 101/6291 = 1,6 \%$$

Die Zellen des carcinoma in situ sind völlig unmarkiert (0/843). Dagegen zeigen die angeschnittenen Drüsenausführungsgänge mit hoch aufgebautem Epithel (Struktur ⑤ in der Skizze) mäßige Proliferation (7/940 = 0,74 %). In der gleichen Größenordnung liegt der LI in mehreren mitangeschnittenen normalen Drüsenlobuli (8/992 = 0,8 %).

markierte Zellen / Gesamtzellzahl

- 1) 1 / 38
- 2) 2 / 73
- 3) 2 / 90
- 4) 3 / 80
- 5) 1 / 89
- 6) 1 / 97
- 7) 3 / 110
- 8) 5 / 142
- 9) 2 / 144
- 10) 4 / 147
- 11) 5 / 162
- 12) 4 / 173
- 13) 12 / 191
- 14) 4 / 205
- 15) 12 / 219
- 16) 8 / 223
- 17) 7 / 235
- 18) 4 / 178

L.I.: 80/2596 = 3,1 %



B.A. 46J.
Gyn 30

Pat.: B.A. 46 Jahre

Gyn 30

Diagnose: Adenokarzinom der Mamma

Klinischer Befund: Im oberen inneren Quadranten der linken Mamma, 7 cm von der Mamille entfernt, ist eine etwa 2 cm große Resistenz tastbar, der radiologisch eine 5 cm große rundliche Gewebsverdichtung mit Ausläufern entspricht.

Vorbehandlung: keine

Histologie: Der ca. 7 x 5 mm große histologische Schnitt zeigt in einem dichten, fibrotischen Bindegewebe unregelmäßige Nester eines Adenokarzinoms der Mamma. Das Tumorgewebe ist weitgehend undifferenziert, läßt jedoch an einigen Stellen tubuläre Strukturen erkennen. Die Karzinomzellverbände breiten sich stark dissozzierend im faserreichen Bindegewebe aus und brechen zirkulär in das umgebende Mammafettgewebe ein. An diesen Stellen liegt zwischen den Tumornestern ein lockeres lymphozytäres Infiltrat. Des Weiteren kommt ein kleines Stück normalen Drüsenkörpergewebes der Mamma zur Darstellung mit Anschnitten mehrerer Drüsenläppchen.

Autoradiographie: In der Autoradiographie findet man die markierten Zellen zufällig im ganzen Tumorparenchym verstreut. Eine Zunahme der Proliferationsaktivität zur Invasionsfront des Karzinoms hin ist nicht nachweisbar. Stellenweise liegen markierte Zellen in unmittelbarer Nachbarschaft zum entzündlichen Infiltrat.

$$\overline{\text{LI}}_{\text{Tumor}} = 80/2596 = 3,1 \%$$

Im normalen Drüsenepithel wird ein Markierungsindex von 0,56 % (27/4859) gefunden.

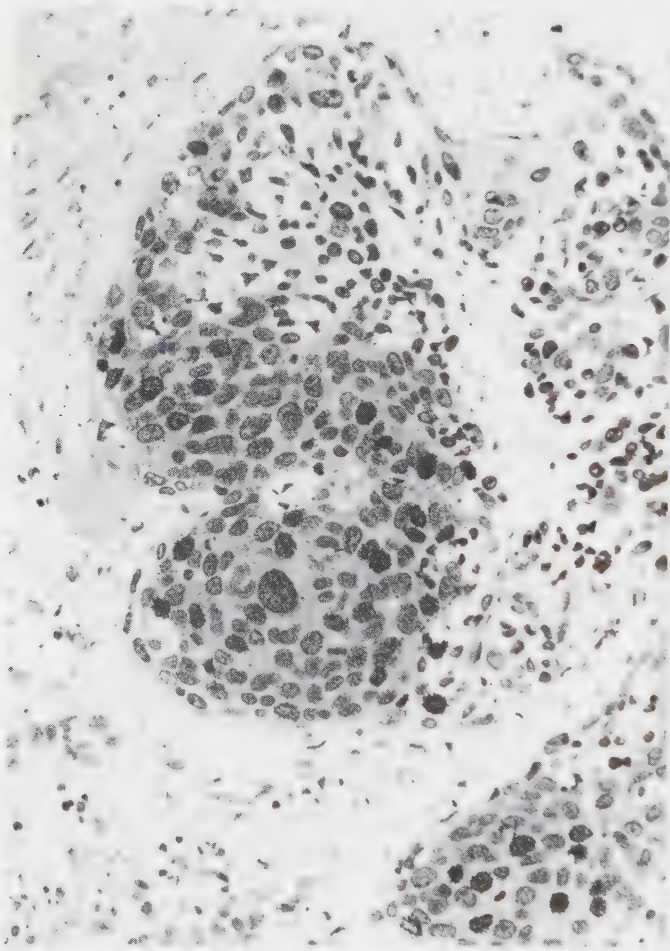


Abb. 1: Tumornest mit starker Kernpolymorphie (Plattenepithelkarzinom der Portio Gyn 18). Am rechten und unteren Bildrand Übergang des Tumors in Nekrose. Hier erkennt man Kernpyknoten und Zelltrümmer. Man beachte das Vorkommen markierter Zellen bis unmittelbar an den Rand der Nekrose heran. (HE ; 340 x)

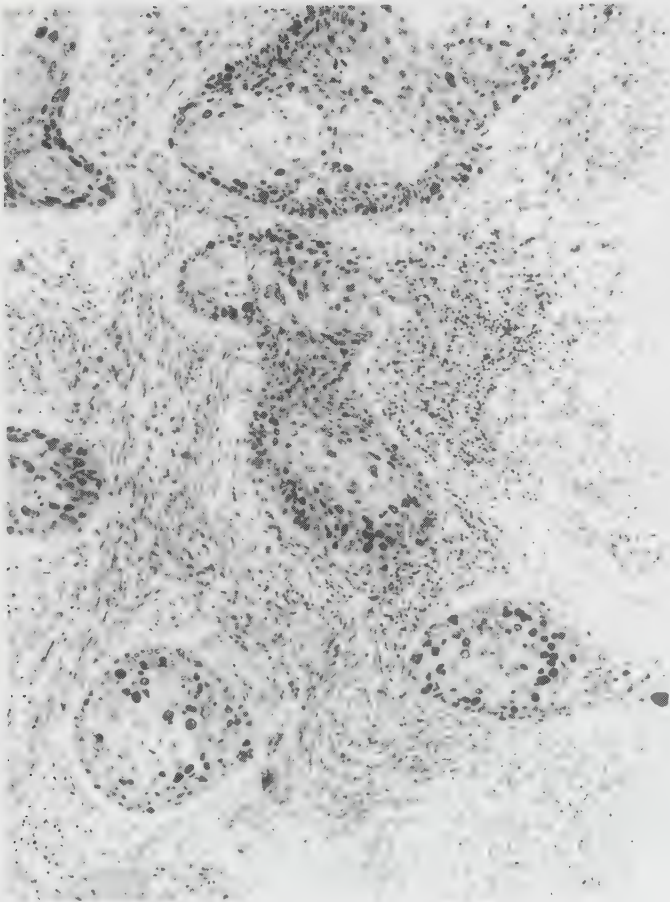


Abb. 2: Lymphangioma carcinomatosum (Plattenepithelkarzinom des Portio Gyn 27). Zentral verhornte Tumorzapfen in einem stellenweise dicht mononukleär infiltrierten Stroma. Die markierten Zellen liegen vornehmlich supra-basal in der Außenzone der Tumornester. (HE; 135 x)

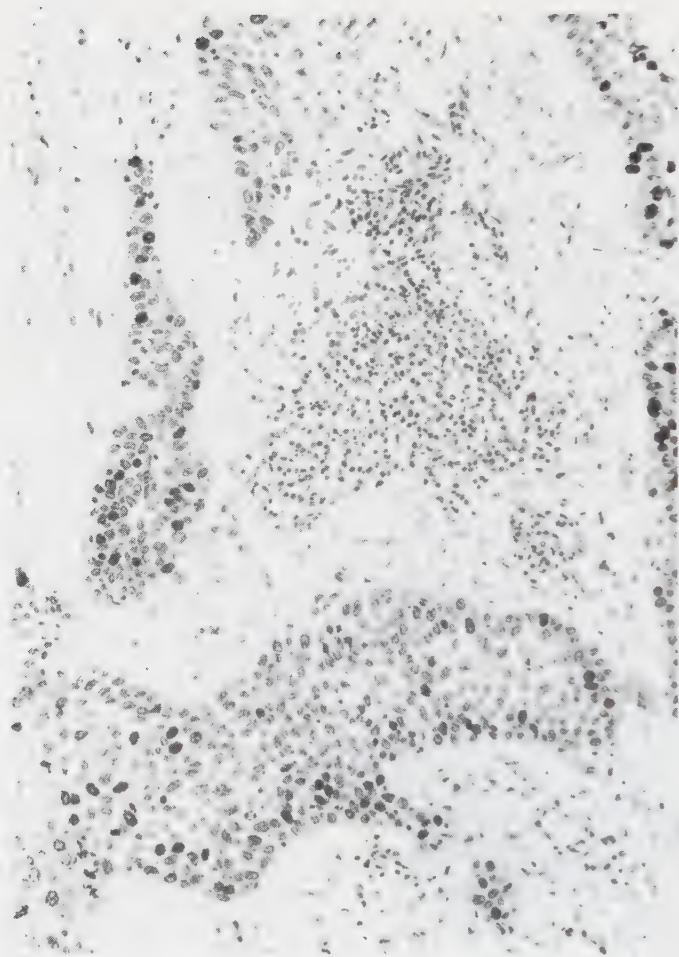


Abb. 3: Zellzapfen des verhornenden Plattenepithelkarzinoms der Portio (Gyn 32)
mit deutlich erkennbarer Markierung vornehmlich in der Stromamanch Zone.
Im Interstitium herdförmig ein dichtes mononukleäres Infiltrat.
(HE ; 240 x)

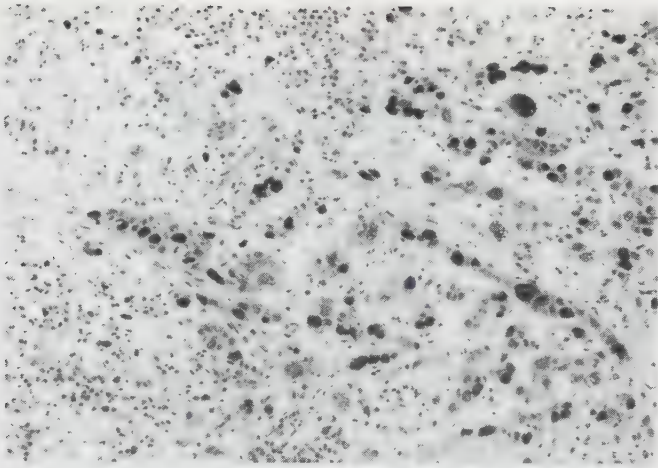


Abb. 4: Fein dissoziierend wachsender Bereich des Plattenepithelkarzinoms der Vulva (Gyn 21). Der Tumor erreicht hier einen lokal sehr hohen Markierungsindex. Das Interstitium ist dicht von Plasmazellen durchsetzt. (HE ; 150 x)

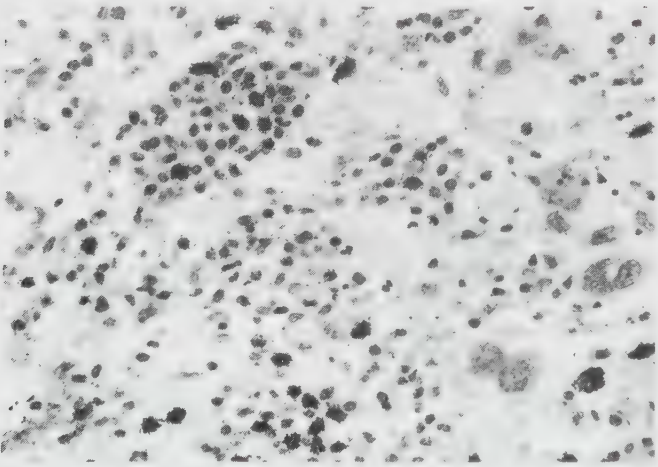


Abb. 5: Plasmazellnester mit deutlicher Kernmarkierung (Plattenepithelkarzinom der Vulva Gyn 21). Am rechten Bildrand zwei unmarkierte Tumorriesenzellen. (HE ; 375 x)

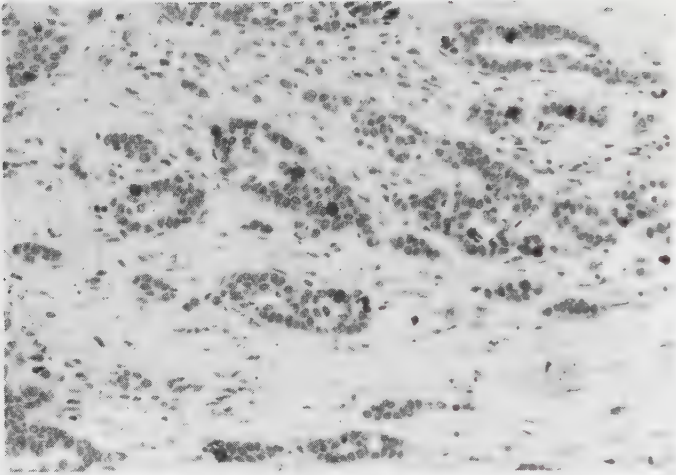


Abb. 6: Vorwiegend tubulär differenziertes Adenokarzinom der Mamma (Gyn 20). Zufällige Verteilung der markierten Zellen im Tumorgewebe. (HE ; 240 x)

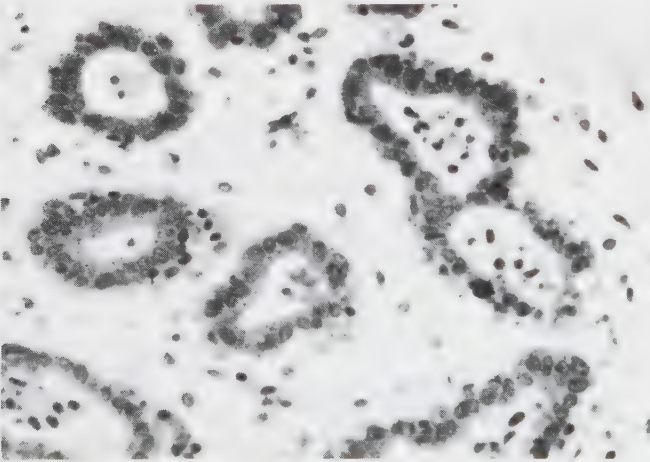


Abb. 7: Drüsenendstücke des normalen Mammagewebes (Präparat Gyn 30). Abgeschilferte Epithelien und Zelldetritus in den Drüsenlumina. Drei markierte Zellen sind im Bild getroffen. (HE ; 240 x)

4. DISKUSSION

4.1. Quantitative Betrachtung des ^3H -Markierungsindex und der Zellproduktion

4.1.1. Häufigkeitsverteilung des ^3H -Markierungsindex

Für eine quantitative Betrachtung der ermittelten Durchschnittswerte des LI in den untersuchten Tumoren ergibt sich zunächst das Problem, daß das untersuchte Material bezüglich Tumortyp, Lokalisation und Vorbehandlung heterogen ist. Ausreichend große Vergleichsgruppen lassen sich nur unter Verzicht auf eine weitergehende Differenzierung bilden.

Unter diesem Gesichtspunkt können zusammengefaßt werden:

- a) alle unbehandelten Plattenepithelkarzinome von Portio und Vulva einschließlich eines carcinoma in situ (8 Präparate)
- b) alle vorbehandelten Plattenepithelkarzinome von Portio und Vulva (8 Präparate)
- c) die Adenokarzinome der Mamma

Keiner der oben genannten Gruppen lassen sich zuordnen: Ein Adenokarzinom des Uterus (LI = 12,7 %), dessen Herkunftsort nicht genau bestimmt werden konnte; ein malignes Melanom der Vulva (LI = 3,3 %), sowie ein nach länger zurückliegender Strahlentherapie rezidivierendes Vulvakarzinom (Gyn 8; LI = 5,0 %). Die Abgrenzung dieses Lokalrezidivs von der Gruppe der vorbehandelten Tumoren erscheint aufgrund des langen Zeitintervalls zwischen Bestrahlung und Biopsieentnahme gerechtfertigt. Andererseits ist aber auch die Zuordnung zu den unbehandelten Tumoren wegen der wohl therapiebedingten ausgeprägten Tumorbettveränderungen (hyaline Stromadegeneration) und deren möglichen Rückwirkungen auf die Zellproliferation nicht ohne weiteres möglich.

Wie aus Tab. 1 hervorgeht, streuen die Markierungsindices der unbehandelten Plattenepithelkarzinome (die Gruppe der vorbehandelten Tumoren wird im Kapitel 4.3. abgehandelt) zwischen 8,3 % (Gyn 2) und 17,1 % (Gyn 35). Die graphische Darstellung der kumulativen Häufigkeit der

LI-Werte für dieses Kollektiv im Wahrscheinlichkeitsnetz zeigt (Abb. 37), daß die Werte in guter Annäherung durch eine log-normale Verteilung wiedergegeben werden können. Diese besitzt einen geometrischen Mittelwert von 11,7 % mit einem (asymmetrischen) mittleren Fehler (SEM) von + 1,2 und - 1,1.

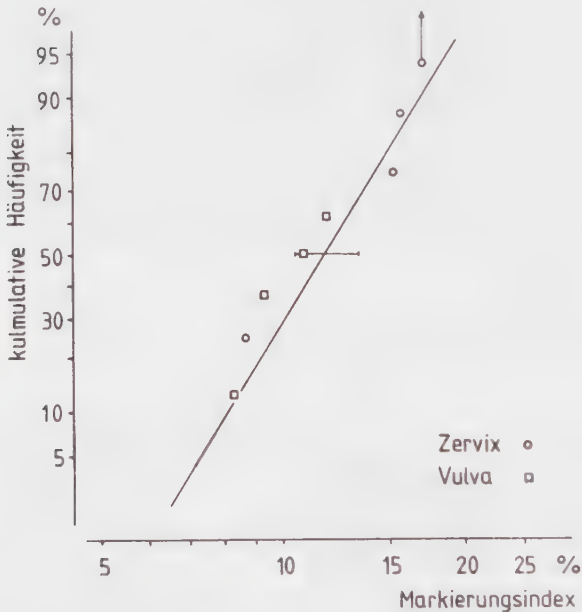


Abb. 37: Kumulative Häufigkeitsverteilung der ^3H -Markierungsindizes aller nicht vorbehandelten Plattenepithelkarzinome von Zervix und Vulva. Darstellung im Wahrscheinlichkeitsnetz.

Die Gültigkeit einer log-normalen Verteilung des Markierungsindex wurde auch für andere menschliche Tumorklassen erwiesen, so beispielsweise von Tubiana (96) und Malaise (48) für 40 Plattenepithelkarzinome aus dem oberen Respi-
rations- und Verdauungstrakt bzw. für 81 Adenokarzinome der Mamma. Zum gleichen Ergebnis kommt Meyer (54) bei der Untersuchung von 170 Mammakarzinomen.
Vergleichswerte in der Literatur zeigen eine breite Streu-

Autor	Fallzahl	Inkub. Material	LI		Bemerkungen
			Median	Streubreite	
a) Yanagita (102) Fettig (24) Coons (14) Siracky (78) Bonilla- Musoles (7)	13	Zellsuspension	17,9 %	1,8-42,5 %	Metastasen carcinoma in situ
	4	Gewebswürfel ⁺		18,3-26,6	
	2	Zellsuspension		3,8- 5,6	
	12	Gewebswürfel ⁺	8,6	3,5-12,1	
	10	"	8,7	6,3-11,9	
	4	"		16,2-20,7	
b) Elequin (19) Siracky (78)	8	"		21,0-29,1	Metastasen
	2	Zellsuspension		5,0-28,5	
	6	Gewebswürfel	9,0	6,3-11,2	
c) Elequin (19) Coons (14) Meyer (55) Meyer (54) Sulkes (84)	6	"	8,3	4,5- 9,5	Metastasen
	2	Zellsuspension		3,7- 5,3	
	1	"		0,7	
	39	Gewebswürfel	1,1	0,3- 5,0	
	170	"	3,8	0,5-15,0	
	56	"	8,1	0,3-38,0	

⁺ Würfel von ca. 1 mm Kantenlänge

Tab. 2: Literaturzusammenstellung von Markierungsindices in Plattenepithelkarzinomen der Zervix (a), der Vulva (b) sowie von Adenokarzinomen der Mamma (c) ermittelt durch in vitro Inkubation mit ³H-Thymidin.

ung der Markierungsindices bei Plattenepithelkarzinomen von Portio und Vulva, ähnlich wie sie in unserem Material gefunden wurde. Einen Überblick über veröffentlichte Daten gibt die Tab. 2. Ein unmittelbarer Vergleich der dort angegebenen Zahlenwerte ist jedoch nur sehr eingeschränkt möglich, da sie auf unterschiedliche Weise ermittelt wurden, so daß sie bereits aus methodischen Gründen stark differieren können.

4 Mammakarzinompräparate wurden ausgewertet. Ihre Markierungsindices liegen zwischen 1,5 und 3,1 %, das geometrische Mittel beträgt 2,1 %.

Sammelt man auch hier die in der Literatur angegebenen Daten zur Proliferationsaktivität von Mammakarzinomen (Tab. 2), so erkennt man deutlich eine Tendenz zu niedrigeren Markierungsindices im Vergleich zu den Zervix- oder Vulvakarzinomen. Allerdings ist auch bei den Mammakarzinomen die Streuung der Werte sehr breit. Möglicherweise ist dies mitbedingt durch systematische Unterschiede der Proliferationsrate histologisch verschieden differenzierter Tumoren. So schlüsseln Meyer, Bauer und Rao (54) 170 eigene, autoradiographisch untersuchte Fälle von infiltrativ wachsendem Mammakarzinom nach der Klassifikation von Fisher, Gregorio und Fisher (27) weiter in 8 verschiedene, histologisch definierte Gruppen auf. Darunter zeigen die medullären und atypisch medullären Karzinome signifikant höhere Markierungsindices als die anderen Gruppen.

Das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Adenokarzinom mit produktiver Fibrose fällt in der obigen Klassifikation unter die große Gruppe der " not otherwise specified " Karzinome. Für dieses sehr heterogen zusammengesetzte Kollektiv mit nicht eindeutiger histologischer Differenzierung gibt Meyer einen mittleren LI (geometr. Mittel) von 4,68 % und eine Streubreite von 0,09 bis 25,4 % an. Wiederum ist allerdings die Vergleichbarkeit der eigenen Ergebnisse mit den Daten der Tab. 2 wegen der unterschiedlichen methodischen Ansätze stark eingeschränkt.

4.1.2. Zellproduktion und potentielle Verdopplungszeit

Aus dem für eine Zellpopulation ermittelten LI-Wert läßt sich unter Verwendung einiger vereinfachender Annahmen die Zellproduktionsrate als wesentliche Kenngröße der Proliferation berechnen. Sie wird üblicherweise ausgedrückt als sogenannte potentielle Verdopplungszeit ($T_{D \text{ pot}}$): Das ist jene Zeit, in der sich die untersuchte Zellfraktion ohne Zellverlust bei annähernd exponentiellem Wachstum numerisch verdoppeln würde.

Die Formel für die Berechnung dieser Größe lautet nach Steel (81):

$$T_{D \text{ pot}} = \lambda \cdot \frac{T_S}{LI} \quad (1)$$

In dieser Formel stellt λ einen Korrekturfaktor dar ($2 \cdot \ln 2 > \lambda > \ln 2$), dessen Größe von der jeweils vorliegenden Altersverteilung der Zellpopulation abhängt. Bei Geweben im Proliferationsgleichgewicht (steady state; Zellverlust = 100 %) ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit einer proliferierenden Zelle in den differentiellen Abschnitten des Zellzyklus überall gleich und $\lambda = 1$. Da sich eine Tumorzellpopulation im allgemeinen nicht im steady state befindet, hängt die relative Zelldichte in der S-Phase von der Lage der S-Phase im Zellzyklus, aber auch von anderen Faktoren wie Modifizierung der Altersverteilung durch Zellverlust u.ä. ab. Wie von Steel (81) gezeigt wurde, können für menschliche Tumoren mit einer langen Verdopplungszeit und einer G_1 -Phase $G_1 \gg G_2$ Werte für λ zwischen 0,7 und 0,8 angenommen werden. Steel schlägt deshalb vor, für die Berechnung der potentiellen Verdopplungszeit generell ein λ von 0,8 zu verwenden, woraus sich für einen Großteil der Tumoren ein Fehler von höchstens ± 10 % ergäbe.

T_S ist die mittlere Dauer der DNS-Synthesephase im Zellzyklus. Ihre tumorindividuelle Bestimmung ist nur mit Hilfe aufwendiger zellkinetischer Untersuchungen, speziell der markierte-Mitosen-Methode möglich.

Tab. 4 gibt einen Überblick über Daten aus der Literatur,

die mit dieser Methode ermittelt wurden. Aus dieser Auflistung läßt sich eine mediane T_S -Dauer von 18 h errechnen. Solange eine Messung der S-Phasendauer für den einzelnen Tumor zu aufwendig ist, stellt auch dieser Wert nach derzeitigem Wissen einen generell verwendbaren Näherungswert dar.

Autor	Tumortyp	T_S (h)
Frindel (29)	Haut	
	Basaliom	18
	Basaliom	18
	Spinaliom	20
	Plattenepithelkarzinom	11
	Plattenepithelkarzinom	12
Bennington (5)	Zervix	
	Plattenepithelkarzinom	11,8
	Plattenepithelkarzinom	8,3
Young (104)	Mamma	
	Adenokarzinom	24
	Adenokarzinom	19
	Adenokarzinom	22
	Metast. Melanom	24
	Metast. Melanom	22
Shirakawa (76)	Metast. Melanom	20
	Metast. Melanom	24
Weinstein (100)	Basaliom	20
Post (63)	Mamma	
	Adenokarzinom	24
Terz (90)	Mamma	
	Adenokarzinom	14
	Adenokarzinom	8,5

Tab. 4: Dauer der DNS-Synthesephase menschlicher Tumoren

Durch Einsetzen des gemessenen LI-Wertes in Formel (1) wurden Einzelwerte der potentiellen Verdopplungszeit für die hier untersuchten Karzinome berechnet (siehe Tab. 1). Sinnvoll ist ein solches Vorgehen jedoch nur unter der Voraussetzung, daß der Markierungsindex in der untersuch-

ten Gewebeprobe repräsentativ für den Gesamttumor ist.

Ist der Markierungsindex eines Tumors bekannt, läßt sich unter Zuhilfenahme obiger Näherungswerte für λ und T_S folgende Faustregel für die überschlagsweise Abschätzung der $T_{D \text{ pot}}$ angeben:

$$T_{D \text{ pot}} = 0,8 \cdot \frac{18 \text{ h}}{\text{LI} \%} \cdot 100 = \frac{60}{\text{LI}} \text{ (d)}$$

Für eine Tumorzellpopulation mit einem ermittelten LI von 12 % ergibt sich beispielsweise eine $T_{D \text{ pot}}$ von 5 Tagen.

4.1.3. Klinische Verdopplungszeit und Zellverlust

Klinische Beobachtungen zeigen übereinstimmend, daß die tatsächliche (= effektive) Verdopplungszeit menschlicher Tumoren wesentlich länger ist als die so berechnete potentielle Verdopplungszeit. Die Diskrepanz zwischen beiden Größen wird allgemein auf Zellverlust, d.h. ein Ausscheiden von Zellen aus dem betrachteten Tumolvolumen durch Abschlüferung, Verschleppung auf dem Blut- oder Lymphweg, sowie Zelltod oder Lyse zurückgeführt.

Nach einem Vorschlag von Steel (80) wird der Zellverlust in Form des Zellverlustfaktors ϕ quantifiziert. Dieser gibt den Anteil der aus einem betrachteten Volumen ausscheidenden Zellen an als Bruchteil der durch Teilung neu hinzukommenden Zellen:

$$\frac{1}{T_{D \text{ pot}}} - \frac{\phi}{T_{D \text{ pot}}} = \frac{1}{T_{D \text{ eff}}}$$

$$\phi = 1 - \frac{T_{D \text{ pot}}}{T_{D \text{ eff}}} \quad (2)$$

$T_{D \text{ eff}}$ stellt hierbei die tatsächliche klinische Tumoverdopplungszeit dar. Benutzt man die angegebene Definition des Parameters ϕ , so entspricht ein Zellverlustfaktor von 1,0 einer Population im steady state, wobei genauso viele Zellen verlorengehen wie jeweils nachgebildet werden.

Die Bestimmung des Zellverlusts nach Formel (2) setzt voraus, daß neben $T_{D \text{ pot}}$ auch $T_{D \text{ eff}}$ bekannt ist. Da die Bestimmung der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit für den einzelnen Tumor häufig unmöglich ist, bieten sich für den Vergleich die in der Literatur zusammengetragenen Daten über die Wachstumsrate menschlicher Tumoren an. Hierbei ist in Kauf zu nehmen, daß diese Daten an sehr unterschiedlichen Tumoren bei einem stark selektierten Patientengut gewonnen wurden.

1965 faßten Steel und Lamerton (82) die bis zu diesem Zeitpunkt veröffentlichten Ergebnisse zusammen. Zum Großteil handelt es sich um Daten, die durch Messung an Röntgenbildern primärer oder metastatischer Lungentumoren gewonnen wurden. Aus neuerer Zeit stammen die Untersuchungen von Malaise (48) sowie Trott (95), dessen Arbeit verschiedene Tumorklassen einschließt. Innerhalb dieser Liste gibt es beträchtliche Unterschiede der $T_{D \text{ eff}}$ -Werte von Autor zu Autor, was wahrscheinlich die großen Unterschiede in den Wachstumsraten der verschiedenen Tumortypen widerspiegelt (Tab. 5). Faßt man alle Daten zusammen, so erhält man eine mediane Tumorverdopplungszeit von etwa 58 Tagen.

Für Mammakarzinome wurden von Fournier (28) durch retrospektive Verlaufsstudien aus Xeroradiographien vergleichsweise lange Tumorverdopplungszeiten ermittelt, die eine deutliche Abhängigkeit von der Tumorgroße zeigen. So findet er beispielsweise für frühe Tumorstadien (zwischen 2 und 10 mm Durchmesser) eine durchschnittliche Verdopplungszeit von 309 Tagen (Tab. 5).

Unter Zugrundelegung dieser Werte errechnen sich im vorliegenden Tumormaterial die Zellverlustfaktoren für unbehandelte Plattenepithelkarzinome mit 0,88 bis 0,94.

Für Mammakarzinome ergeben sich unter Verwendung der Daten von Fournier identische Werte.

Autor	Lokalisation	Fallzahl	mittlere Verdopplungszeit (d)	Streu- breite (d)
Breur	Lungenmetastasen	86	40	4-745
Collins	Lungenmetastasen	24	40	11-164
Collins	Lungenmetastasen von Colon/Rektum	25	96	34-210
Garland	Primäre Bronchial- karzinome	22	105	27-480
Schwartz	Primäre Bronchial- karzinome	12	62	17-200
Spratt	Primäre Knochen- sarkome	6	75	21-360
Malaise	Plattenepithel- karzinome	51	58	
Trott	Plattenepithel- karzinome	10	42	20- 95
	Adenokarzinome des Rektums	4	50	14-110
Fournier	Mammakarzinome	53	309	

Tab. 5: Verdopplungszeiten menschlicher Tumoren nach Steel und Lamerton (82) erweitert um die Daten von Malaise (48), Trott (95) und Fournier (28).

4.2. Räumliches Muster der Zellproliferation

4.2.1. Markierungsmuster als verzerrtes Abbild normaler Plattenepithelproliferation

Zahlreiche Epithelien weisen eine räumlich geordnete Proliferation auf. Für das normale Plattenepithel der Portio gilt ebenso wie für die Epidermis, daß die Zellproliferation ausschließlich im Stratum basale stattfindet. Nur einige Autoren (25) lokalisieren die Zellvermehrung ins Stratum parabasale. Die neugebildeten Zellen wandern unter Differenzierung zur Oberfläche, wo sie abgestoßen werden. Bei dieser Wanderung verlieren sie die Fähigkeit der DNS-Synthese und Zellteilung und sind deshalb auto-

radiographisch unmarkiert. Schon im unteren Stratum spinosum kann normalerweise keine Zellneubildung mehr nachgewiesen werden. Beim normalen Plattenepithel im steady state handelt es sich also um ein Zellsystem mit deutlicher topographischer Trennung der proliferativen und funktionellen Schichten.

Mehrere autoradiographische Untersuchungen (7,24,25) am Plattenepithel der Zervix uteri und seiner präkanzerösen Vorstufen (Dysplasie, atypisches Epithel, carcinoma in situ) ergaben als übereinstimmendes Ergebnis, daß mit zunehmender Entdifferenzierung die Zahl der DNS-synthetisierenden Zellen zunimmt und diese sich über alle Schichten des Epithels ausbreiten. Dadurch verwischt sich im Lauf der Kanzerogenese die im normalen Plattenepithel vorhandene scharfe Trennung zwischen proliferierendem und postmitotisch fixiertem Zellkompartiment. Ähnliche Ergebnisse erbrachten Kanzerisierungsstudien an der Epidermis der Maus (61).

Ein anschauliches Beispiel für die beschriebene Verwischung des Proliferationsmusters liefert der eigene Befund eines carcinoma in situ der Portio, das eine deutliche Ausbreitung markierter Zellen bis in die obersten Zellagen zeigt (Gyn 23).

4.2.2. Differenzierungsgrad und Markierungsmuster

Die untersuchten Fälle von infiltrativ wachsenden Plattenepithelkarzinomen zeigen große Unterschiede im Grad der histologischen Ausreifung: Hochdifferenzierte Tumoren mit starker Verhornung (Gyn 2, 8, 24), Übergangsfälle mit zunehmenden Kern- und Zellatypien (Gyn 14, 18, 31, 37) und weitgehend anaplastische Karzinome (Gyn 21, 22). Dieses breite Spektrum ermöglicht es, den Einfluß des Differenzierungsgrades auf das Proliferationsmuster zu beurteilen.

Alle drei hochdifferenzierten Plattenepithelkarzinome (Gyn 2, 8, 24) stammen von der Vulva. In diesen stark verhornten Plattenepithelkarzinomen finden sich markierte Zellen ausschließlich in den peripheren, dem Stroma zuge-

wandten Schichten der Tumorzapfen, die meist 2 - 3 Zelllagen einschließen. Zentral davon gelegene Zellen sind ausnahmslos unmarkiert. Dieses Wachstumsverhalten ähnelt also stark demjenigen, das als typisch für das normale Plattenepithel beschrieben wurde.

Der Fall Gyn 8 stellt ein Rezidiv nach länger zurückliegender kurativer Strahlentherapie dar. Die in diesem Präparat beobachtete hohe Differenzierung darf nicht mit der frühen, strahleninduzierten Differenzierung (1,18,31,32,35,37,99) gleichgesetzt werden, die reversibel ist.

Je undifferenzierter das Tumorgewebe morphologisch wird, d.h. je mehr der für das Plattenepithel typische Schichtenaufbau verlorenggeht, umso mehr Zellagen nehmen an der Proliferation teil. Gyn 32 zeigt das Beispiel eines ausreifenden, teilweise verhornenden Plattenepithelkarzinoms der Portio. In diesem Präparat ist die Zone, in der noch markierte Zellen zu finden sind, bereits deutlich breiter als in den oben aufgeführten hochdifferenzierten Tumoren. Eindeutig verhornende Areale sind jedoch nach wie vor unmarkiert.

Daß selbst einzelne Zellen mit intrazytoplasmatischer Ablagerung von Hornsubstanz noch zu proliferieren vermögen, zeigt das Präparat Gyn 27, das knotenzentral nur noch eine unvollständige Verhornung erkennen läßt. Bei noch weiter entdifferenzierten Karzinomen wie Gyn 14 und 18, die so gut wie keine Verhornung mehr zeigen, finden sich schließlich markierte Zellen in der Regel im gesamten Querschnitt der Tumorknoten.

In allen bisher besprochenen Fällen läßt sich, parallel mit der Einbeziehung immer weiterer Zellagen in das proliferationsfähige Zellvolumen topographisch eine Abnahme des LI und der mittleren Silberkorndichte von den stromanahen Zellreihen zum Zentrum der Knoten hin nachweisen. Inwieweit hierbei neben dem Einfluß der Zellreifung auch noch andere Faktoren zum Tragen kommen, wie z.B. Unterschiede in der Sauerstoff- und Substratversorgung zwischen stromanahen und stromafernen Zellen, wird später (4.2.4. und 4.2.5.) zu diskutieren sein.

4.2.3. Tumorstruktur und lokaler Markierungsindex

Neben dem durch die Zelldifferenzierung bedingten Markierungsmuster waren in den untersuchten Tumorschnitten meist noch großräumigere Inhomogenitäten der Markierung zu beobachten, die eine deutliche Abhängigkeit vom Tumoraufbau erkennen ließen.

Plattenepithelkarzinome zeigen an der Invasionsfront in das umgebende gesunde Gewebe sehr häufig eine Auflösung des mehr solide gebauten Tumors in dissoziierende Tumorausläufer und/oder ein Abtropfen kleiner Zellkomplexe in das angrenzende Gewebe.

Bei einigen der hier untersuchten Tumorschnitte war es möglich das Markierungsmuster in der Hauptmasse des Tumors und gleichzeitig in den kleinen, infiltrierend wachsenden Tumorzellsträngen zu beobachten (Gyn 9, 14, 24, 37). In allen diesen Präparaten fällt auf, daß der LI in den Tumortrabekeln und Zellnestern der Invasionsfront deutlich höher liegt als in den kompakter organisierten Tumorteilen. In mehreren Fällen läßt sich diese Abhängigkeit des lokalen LI vom Tumoraufbau auch quantitativ beschreiben.

So wurde in Gyn 9, einem oberflächlich stark verhornenden Plattenepithelkarzinom der Vulva, der Markierungsindex getrennt in den trabekulär wachsenden und in den mehr soliden Tumorealen bestimmt. Die trabekulären Strukturen waren mit 18,7 % mehr als doppelt so hoch markiert wie die größeren Tumorknoten mit 8,4 %.

Das Vulvakarzinompräparat Gyn 24 zeigt sehr schön das Abtropfen kleiner Tumorzellnester aus einer großen, soliden Tumormasse. Mit 12,7 % liegt der LI in den kleinen Zellinseln auch hier deutlich über dem Durchschnitt des Gesamtpräparates von 8,5 %.

Gewisse Überschneidungen mit den Determinanten Differenzierung und Tumoraufbau ergeben sich daraus, daß die kleinen Tumortrabekel bzw. Zellnester der Invasionsfront durchwegs aus unreifen, nicht differenzierten Zellen bestehen. In den geschilderten Fällen ist deshalb nicht zu entscheiden, welcher Anteil an der beobachteten Zunahme des LI der

lokalen Tumorstruktur bzw. der fehlenden Zelldifferenzierung zuzuschreiben ist. Die Einflußnahme der Tumorstruktur auf den lokalen LI wird jedoch bestätigt in Präparaten, die keine erkennbaren zellulären Differenzierungsunterschiede aufweisen.

Im Präparat Gyn 14, einem entdifferenzierten Portiokarzinom finden sich eine größere solide Tumormasse und in der angrenzenden glatten Muskulatur zahlreiche kleine Tumornester. Mit 12,9 % ist der solide Bezirk deutlich schwächer markiert als die kleinen Absiedelungen mit einem LI von 21,8 %.

Ein weiteres Beispiel einer stark inhomogenen Proliferationsrate bietet das Präparat Gyn 37. Hierbei handelt es sich um ein entdifferenziertes Plattenepithelkarzinom der Vulva mit lokal sehr unterschiedlichem strukturellem Aufbau. Der durchschnittliche LI des Gesamttumors beträgt 10,8 %. Oberflächlich solide gebaut (lokaler LI = 5,5 %) geht der Tumor zur Tiefe hin in ein ausgesprochen trabekuläres Wachstum über (LI in diesem Bereich = 6,6 %). In verschiedenen retikulär gebauten Abschnitten der Invasionsfront erreicht der LI schließlich Werte zwischen 21,3 und 34,5 %.

Zusammenfassend kann festgestellt werden: Viele der untersuchten Plattenepithelkarzinome zeigen an der Invasionsfront des Tumorgewebes einen deutlich höheren Markierungsindex als im Zentrum des Tumors. Das Gleiche gilt auch für die Silberkorndichte der einzelnen markierten Zellen. Aus diesen systematischen Unterschieden kann zellkinetisch auf eine größere Wachstumsfraktion und Zellproduktionsrate in der Peripherie des Tumors geschlossen werden. Inwieweit die unterschiedliche Zellproduktion mit regional unterschiedlichem Zellverlust einhergeht, läßt sich bisher nicht abschätzen.

4.2.4. Gefäßversorgung und Markierungsmuster

Wie aus Untersuchungen an anaplastischen Tiertumoren bekannt ist, weist die Proliferationsaktivität der Tumor-

zellen sehr häufig eine enge Beziehung zur Gefäßversorgung im Tumorgewebe auf (52,88).

Mendelsohn (51) beschrieb 1965 eine Abnahme des proliferierenden Zellkompartments im schlecht vaskularisierten Inneren von Tumoren und führte die beobachtete Abnahme des Markierungsindex auf zunehmenden Mangel an Stoffwechselangebot mit der Tiefe des Tumorgewebes zurück. Hermens und Barendsen (40) beobachteten am Rhabdomyosarkom der Ratte einen deutlichen Abfall des LI vom Tumorrand zum Zentrum hin, während die Zellzykluszeit nur wenig verlängert war.

Noch deutlicher läßt sich die Beziehung zur Gefäßversorgung auf histologischer Ebene darstellen. So studierte Tannock (87) einen transplantablen Mäusetumor, in dem sich das vitale Krebsgewebe in Strängen um eine zentrale Kapillare anordnet; hierbei nahm mit zunehmendem Abstand der Zellen vom Blutgefäß die Proliferationsfraktion und parallel damit der LI stark ab. Ein gleichsinniges Verhalten beschrieben Hirst und Denekamp (41) an einem Mammakarzinom der Maus. Als limitierender Faktor wurde in allen angeführten Untersuchungen im Wesentlichen die O_2 - und Substratversorgung erkannt.

Befunde an menschlichen Tumoren sind spärlich. Bei der autoradiographischen Untersuchung renaler Adenokarzinome mit Hilfe der extrakorporalen Perfusion konnte Rabes (66) feststellen, daß die Gefäßbeziehung einen entscheidenden Faktor für die Proliferationsaktivität des Nierentumorgewebes darstellt. So beobachtete er, daß medullär oder solide wachsende, kapillarfrie Tumorzellverbände in der dem Stroma anliegenden Außenzone hoch markiert sind und einen deutlichen Abfall des LI zum Zentrum hin aufweisen.

Die gleiche Situation bezüglich der Gefäßversorgung liegt bei den nicht kapillarisierten größeren Knoten und soliden Arealen der Plattenepithelkarzinome vor, so daß man dasselbe Markierungsmuster erwarten müßte. In der Tat fällt, wie bereits beschrieben (4.2.2.), in den Karzinomknoten der LI von den basalen, stromanahen Zonen zum Zentrum deutlich ab. Hier liegen jedoch, zumindest bei den

differenzierten Plattenepithelkarzinomen, die noch den typischen Schichtenaufbau des Ausgangsgewebes erkennen lassen, stets dem Stroma zugewandt die teilungsaktiven germinativen Zonen, aus denen die Zellen unter Verlust ihrer Proliferationsfähigkeit zum Inneren der Knoten wandern (siehe 4.2.1.). Bereits in diesem Bauplan differenzierter Plattenepithelkarzinome ist der Abfall des LI von außen nach innen vorgegeben. Ein zusätzlicher Einfluß der Gefäßversorgung auf das Proliferationsmuster ist hiervon nicht zu unterscheiden.

Anders liegen die Verhältnisse bei den entdifferenzierten Plattenepithelkarzinomen, die eine zytologische Differenzierung und einen typischen Schichtenaufbau nicht mehr aufweisen (Gyn 14, 18, 31, 35). Auch in diesen Präparaten findet sich am Übergang vom Tumorparenchym zum umgebenden Bindegewebe eine deutlich höhere Markierung als in den zentral gelegenen bzw. stromafernen Partien. Die gleiche Beobachtung läßt sich auch an den medullär wachsenden Tumoren ohne interstitielle Stromasträßen (Gyn 12, 17, 22) machen.

Allerdings muß einschränkend festgestellt werden, daß eine fokale stark erhöhte Proliferationsrate um Blutgefäße herum, wie sie beispielsweise Rabes (66) als typisch für die von ihm untersuchten Nierenkarzinome beschreibt, in keinem der hier vorliegenden Plattenepithelkarzinome von Zervix und Vulva nachzuweisen war. Weitere in vitro-Untersuchungen aus unserem Labor, so an malignen Melanomen der Haut (22) zeigen ebenfalls, daß eine eindeutige Gefäßbeziehung der Proliferation bei menschlichen Tumoren eher die Ausnahme darstellt.

Insgesamt läßt sich festhalten: Bei differenzierten Plattenepithelkarzinomen ist der Einfluß der Gefäßversorgung auf das Proliferationsmuster nicht zu belegen, da im Bauplan bereits eine Zuordnung von germinativen Schichten und Stroma angelegt ist. Bei entdifferenzierten Karzinomen und medullär wachsenden Tumoren läßt sich ein Einfluß auf das Wachstumsverhalten aber nachweisen.

4.2.5. Lokale Unterschiede in der Silberkorndichte markierter Zellen

Als typisch für die in Zapfen und kleinen Knoten wachsenden Plattenepithelkarzinome von Zervix und Vulva wurde der Befund beschrieben, daß der LI von der Peripherie zum Zentrum der Tumorzapfen abfällt. Parallel mit diesem Abfall des LI zeigte sich jedoch immer auch eine gleichsinnige Abnahme der Silberkorndichte über den markierten Zellen.

Ein solcher Silberkorngradient trat in allen Präparaten völlig unabhängig davon, ob sich ein Zapfen unmittelbar am Rand oder im Zentrum des autoradiographierten Schnittes befand, in immer gleicher Weise auf. Damit ist dieses Phänomen verschieden von den Befunden von Meyer und Connor (56), die einen systematischen Abfall der Silberkorndichte von der Peripherie zum Zentrum ihrer autoradiographierten Schnitte beschreiben. Hierbei dürfte es sich wohl um ein technisch bedingtes Artefakt handeln.

Während der Abfall des LI von außen nach innen im Tumorzapfen durch eine Abnahme der Wachstumsfraktion erklärt werden kann, ist der gleichsinnige Rückgang der Körnchenzahl über der einzelnen markierten Zelle in seiner Wertigkeit mehreren Deutungen zugänglich.

Folgende Ursachen sind theoretisch denkbar:

- a) schlechtes Eindringen des DNS-Vorläufers in die Plattenepithelzapfen und damit Abnahme des lokalen ^3H -TdR-Angebots
- b) Verdünnung des angebotenen ^3H -TdR durch endogen gebildetes Thymidin-5'-Phosphat
- c) geringere Einbaurate von ^3H -TdR in die Zelle wegen Verlangsamung der DNS-Synthese (Verlängerung von T_S)

Was das Eindringen des ^3H -TdR in das Gewebe betrifft, so konnte in wiederholten Versuchen (23,55,56) an verschiedenen Adenokarzinomen und Sarkomen nachgewiesen werden, daß der radioaktive Marker sehr gut Gewebeblöcke bis zu 1 mm Durchmesser penetriert und damit nicht den limitierenden Faktor für die Markierung darstellt. Zwar wurden gleiche Versuche an Plattenepithelkarzinomen noch nicht ausgeführt,

es ist jedoch unwahrscheinlich, daß der Plattenepithelverband mit seinen ausgeprägten Interzellularräumen eine stärkere Diffusionsbarriere darstellt als anderes Tumorgewebe.

Verifiziert werden konnte der Einfluß der ^3H -TdR-Verdünnung im endogenen Thymidinpool auf die Silberkorndichte im Autoradiogramm. Heidelberger (39) benutzte bereits 1973 5-fluor-2'-desoxyuridin (FUDR) zusätzlich zum ^3H -TdR im Inkubationsgemisch. FUDR ist ein Pyrimidinantagonist und greift in die DNS-Synthese durch kompetitive Hemmung der Thymidylatsynthetase ein. Durch Zugabe von FUDR konnte im Knochenmark der Ratte und bei menschlichen Leukämiezellen eine vollständige Hemmung der endogenen Synthese von Thymidinmonophosphat (dTMP) erzielt werden (11).

Diese Verringerung des endogen gebildeten Thymidinphosphats hat einen vermehrten Einbau von ^3H -TdR in die DNS zur Folge und führt autoradiographisch zu einem deutlichen Anstieg der Silberkorndichte und des Markierungsindex durch bessere Nachweisbarkeit schwach bis unterschwellig markierter Zellen (17,56,57,74).

Daß es auch im Inneren von Plattenepithelkarzinomen zu einer starken Anhäufung von DNS-Abbauprodukten und damit deren Reutilisation kommt, wird allein durch die hohe Zellverlustrate sowie den mikroskopischen Nachweis von Zelluntergang und Karyolyse in diesen Strukturen sehr wahrscheinlich.

Über eine Verlängerung der DNS-Synthesedauer im Inneren von Tumorknoten gibt es bisher noch keine gesicherten Ergebnisse. Daten von transplantablen Tiertumoren über die Abhängigkeit der Zyklusphasen, insbesondere der S-Phasendauer, von der Lage der Zelle im Gewebsverband sind widersprüchlich (41,87). Rabes (65) fand 1969 am Diäthylnitrosamin-induzierten Leberzellkarzinom der Ratte eine breite Streuung der Zellzykluszeiten, wenn alle, also auch die zentralen Zellen des Tumors, zur Aufstellung der Kurve der markierten Mitosen herangezogen wurden. Hingegen wiesen die entsprechenden Kurven für die Zellen der besser vaskularisierten Tumorperipherie auf eine wesentlich engere

Verteilung und deutlich kürzere mittlere Zyklusdauer hin. Prinzipiell kommt eine solche Änderung der Zellzykluszeit und der S-Phasendauer durch eine Abnahme des O_2 - oder Substratangebots durchaus in Betracht. In der Zellkultur konnten sowohl von Bedford (4) sowie von Born et al. (8) unter kontrollierten Bedingungen einer chronischen Hypoxie eine deutliche Verlängerung der S-Phasendauer nachgewiesen werden.

Der beobachtete Abfall der mittleren Silberkorndichte pro markiertem Zellkern ist damit vermutlich Ausdruck verschiedener Wirkungsmechanismen. In Frage kommt zum einen sicher die experimentell belegte Verdünnung des 3H -TdR im endogenen Thymidinpool; sie täuscht eine Verlangsamung der DNS-Syntheserate vor. Zum anderen halten wir eine echte Abnahme der Syntheserate in Abhängigkeit von der Lokalisation in Zellkomplexen des Plattenepithelkarzinoms für durchaus wahrscheinlich. Bei einer parallel gehenden Verlängerung der gesamten Zyklusdauer wäre die beobachtete Inhomogenität der Silberkorndichte damit ein sichtbarer Ausdruck für die ausgeprägte Streuung der Zellzykluszeit in menschlichen Plattenepithelkarzinomen (29).

4.2.6. Markierungsmuster der untersuchten Mammakarzinome

Die vier untersuchten Mammakarzinome gehören alle zum Typ infiltrativ wachsender Adenokarzinome mit produktiver Fibrose. Die Tumorzellen liegen dabei zu kleinen Nestern aggregiert zwischen dicken Faserbündeln.

Nach der Klassifikation der Mammakarzinome von Fisher, Gregorio und Fisher (27) fällt dieser Tumortyp unter die Gruppe der "not otherwise specified tumours". In einer größeren Untersuchung von Meyer, Bauer und Rao (54) über die Klassifizierung der infiltrativ wachsenden Mammakarzinome macht diese Gruppe mit 77,1 % den größten Anteil aus, während die restlichen histologischen Typen (adenozystisch, lobulär, medullär, mucinös, papillär und tubulär) zusammen nur 22,9 % aller Karzinome der Brust stellen.

An zwei der hier untersuchten Präparate (Gyn 19, 29) war es möglich, Randanteile des Tumors mit seinem mehr fibrösen

Zentrum zu vergleichen. Der insgesamt niedrige Markierungsindex macht die quantitative Beurteilung schwierig, jedoch erscheinen beide Male die Randgebiete des Tumors stärker markiert als das Innere.

Einen interessanten Vergleich erlaubt das Präparat Gyn 29. Neben dem Krebsgewebe lassen sich verschiedene Stadien der Kanzerisierung im gleichen Tumorschnitt beobachten. Zwischen den Zellnestern des infiltrierend wachsenden Karzinoms (LI = 1,6 %) liegen Drüsenendstücke, die ausgefüllt sind von atypischen Zellen eines carcinoma in situ lobulare. In diesen Strukturen findet man auf 843 gezählte Zellen keine markierte Zelle. An anderer Stelle erkennt man kleine Ausführungsgänge mit intraduktaler (nicht maligner) Epithelproliferation. Mit 0,78 % weisen sie einen deutlich niedrigeren Markierungsindex als das karzinomatöse Epithel auf.

Die Silberkorndichte war in allen untersuchten Mammakarzinomen durch die ganze Ausdehnung der Tumorschnitte annähernd gleich hoch.

4.2.7. Entzündliches Infiltrat und Tumorzellproliferation

Fast in allen untersuchten Tumorschnitten findet sich dort, wo das Karzinom in das umgebende Gewebe einwächst, ein meist rundzelliges entzündliches Infiltrat.

Zusammensetzung, Ausbreitung und Dichte der entzündlichen Begleitreaktion zeigen beträchtliche Unterschiede von Tumorschnitt zu Tumorschnitt.

In manchen Präparaten fällt ein hoher Anteil von Plasmazellen am entzündlichen Infiltrat auf (Gyn 6, 21, 25, 29), wobei sich die Plasmazellen oft zu kleinen Knötchen zusammenlagern. Das Präparat Gyn 23, ein carcinoma in situ, zeigt die Beimischung relativ vieler eosinophiler Granulozyten.

Bei allen untersuchten Mammakarzinomen liegen die Lymphozyten und Plasmazellen locker zwischen den Tumorzellnestern verstreut. Nur im Präparat Gyn 29 findet sich zusätzlich in der Umgebung kleiner Ausführungsgänge mit hoch aufgebaumtem Epithel eine sehr dichte Ansammlung von Plasmazellen.

Typisch für die meisten Plattenepithelkarzinome ist das Bild eines entzündlichen Infiltrats, das wie ein Band die Tumordinvasionsfront gegen das umgebende Gewebe abgrenzt (Gyn 2, 9, 10, 21, 22, 23, 24, 35) oder wie ein Hof die Tumorzellnester umschließt (Gyn 14, 27, 32). Das Infiltrat kann dabei nur locker ausgebildet sein mit einzelnen Verdichtungsknoten (Gyn 22, 23, 24, 32) oder aber sich zu einem sehr dichten Verband zusammenlagern, der das ortständige Gewebe vollständig verdeckt (Gyn 9, 10, 14, 27).

Es liegt nahe, ein solches Infiltrat als Reaktion des Körpers auf den antigenen Reiz des maligne entarteten Gewebes aufzufassen. Black und Speer (6) berichten über eine direkte Korrelation zwischen dem Ausmaß der lymphozytären Infiltration des Tumorgewebes und der Überlebenszeit des Patienten. Wolf-Jürgensen et al. (101) konnten durch Verabreichung von Antilymphozytenserum Größenwachstum und Metastasierung transplanterter Mäusemelanome signifikant steigern. De Cosse und Gelfant (16) wiesen nach, daß es beim Ehrlich-Aszites-Tumor der Maus - einem allerdings stark antigenen Tumor - unmittelbar nach Zugabe von Antilymphozytenserum zu einem sprunghaften Anstieg der Mitoserate kommt. Shirakawa (76) schließlich schreibt der Anwesenheit eines chronisch entzündlichen Infiltrats einen Einfluß auf den lokalen LI beim malignen Melanom des Menschen zu.

Die vorliegenden Präparate erlaubten eine gezielte Befundung der Auswirkungen des entzündlichen Infiltrats auf den lokalen Markierungsindex bei Plattenepithelkarzinomen von Zervix und Vulva und bei Adenokarzinomen der Mamma. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der oben aufgeführten Autoren war in keinem Präparat ein Einfluß des entzündlichen Infiltrats auf die Proliferationsaktivität der Tumorzellen erkennbar, unabhängig davon, ob es sich um ein lockeres oder sehr dichtes Infiltrat handelte. Die hohen Markierungsindices der untersuchten Karzinome lassen dabei eine relativ sichere Aussage zu. Auch Rabes (66) findet in den von ihm untersuchten Nierenkarzinomen nach Perfusion mit ^3H -TdR keine Hemmung der DNS-Syntheseaktivität der Tumorzellen in unmittelbarer Nähe des lymphatischen Infiltrats. Zum glei-

chen Ergebnis gelangt Enthammer (22) beim malignen Melanom des Menschen.

In einigen Fällen von unbehandelten Plattenepithelkarzinomen wurde der Markierungsindex des lympho-plasmazellulären Infiltrats auch quantitativ bestimmt (auf die Verhältnisse bei den vorbestrahlten Tumoren wird im Kapitel 4.3.3. eingegangen). In den meisten Fällen zeigte das entzündliche Infiltrat nur eine geringe Markierung zwischen 1 - 2 % (Gyn 2, 9, 10, 21, 24). Deutlich höher (10,9 %) lag der Markierungsindex im Präparat Gyn 35 mit einem sehr dichten mononukleären Infiltrat und einem relativ hohen Anteil von Plasmazellen. Eindeutig ließen sich auch markierte Plasmazellen nachweisen. Eine quantitative Auswertung des LI speziell für diese Zellgruppe war wegen der hohen Silberkorndichte in diesem Präparat, die die Kernstruktur weitgehend verdeckte, jedoch nicht möglich.

4.3. Quantitative Betrachtung der Zellproliferation in vorbestrahlten Tumoren

4.3.1. Häufigkeitsverteilung des ^3H -Markierungsindex in vorbestrahlten Tumoren

9 Patientinnen mit Karzinomen der Zervix bzw. der Vulva hatten eine externe Bestrahlung mittels Telekobalt oder Linearbeschleuniger vor Biopsieentnahme erhalten. In 8 Fällen handelte es sich um eine Kurzzeitvorbestrahlung mit Tumordosen von 1-3 mal 250 R. In einem Fall (Gyn 8) war $1\frac{1}{2}$ Jahre vor der jetzigen Behandlung eine kurative Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von 5200 R erfolgt.

Als Auszug aus Tab. 1 sind in Tab. 6 noch einmal alle Fälle aufgelistet, die vor Biopsieentnahme bereits eine Strahlenbehandlung erhalten hatten.

Die Daten zur Vorbehandlung sind dabei wiederum angegeben als Einzeldosis und Abstand der jeweiligen Einzeldosis zur Biopsieentnahme in Tagen. Die Angabe 250 R/3.1.Tag bedeutet also: Die Patientin erhielt eine Vorbestrahlung von insgesamt 500 R mit Einzeldosen von jeweils 250 R am 3. und 1. Tag vor Biopsieentnahme.

Pat.	Alter	Lokalisat.	Vorbehandlung	LI	Tumor	Life Ex.
H.T.	68	Zervix	250R/2.Tag	5,0%	5,70	Gyn 9
V.A.	68	"	250R/2.Tag	11,2	5,3	Gyn 10
K.K.	55	"	250R/2.Tag	21,2	2,8	Gyn 14
H.R.	64	"	250R/2.Tag	23,1	2,8	Gyn 27
S.A.	56	"	250R/3.1.Tag	13,0	4,8	Gyn 22
F.M.	64	"	250R/3.2.Tag	22,0	2,8	Gyn 32
L.A.	76	"	250R/5.4.Tag	5,4	11,2	Gyn 25
H.T.	71	Vulva	250R/11.9.7.Tag	19,0	3,2	Gyn 21
B.T.	71	Vulva	5200R/1,5 Jahre	5,0	12,0	Gyn 8

Tab. 6: Aufstellung der untersuchten Fälle von vorbestrahlten Plattenepithelkarzinomen (Auszug aus Tab. 1)

Gyn 8 wird bei den folgenden Überlegungen außer acht gelassen. Es handelt sich hierbei um ein Rezidiv eines vor 1,5 Jahren kurativ bestrahlten Vulvakarzinoms. Aufgrund der langen Remissionsdauer ist ein direkter Einfluß der Bestrahlung auf das Proliferationsverhalten des jetzigen Tumors ausgeschlossen.

Wie aus Tab. 6 ersichtlich wird, streuen die LI-Werte der vorbehandelten Tumoren zwischen 5,4 und 23,1 %. Das geometrische Mittel liegt bei 14,0 % mit einem (asymmetrischen) mittleren Fehler (SEM) von + 2,8 und - 2,3. Auch hier ergibt die graphische Darstellung der kumulativen Verteilung im Wahrscheinlichkeitsnetz eine gute Annäherung an eine log-normale Verteilung.

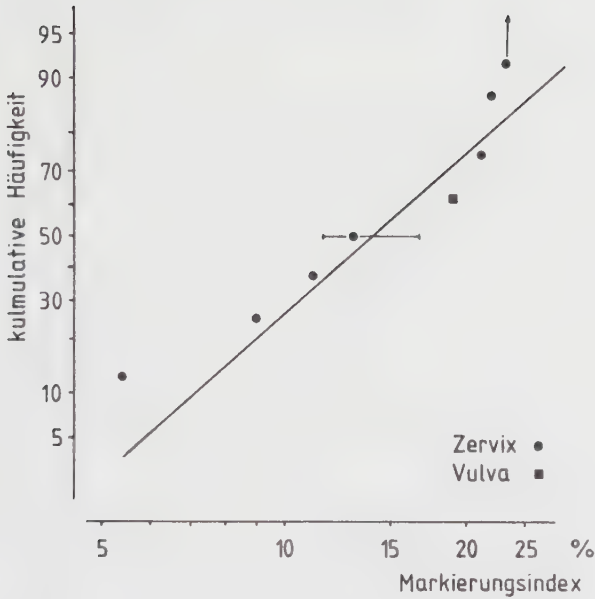


Abb. 38: Kumulative Verteilung der ^3H -Markierungsindices vorbestrahlter Plattenepithelkarzinome von Zervix und Vulva im Wahrscheinlichkeitsnetz.

Zum Vergleich liegen die Markierungsindices bei den nicht vorbehandelten Plattenepithelkarzinomen von Zervix und Vulva zwischen 8,3 und 17,1 % mit einem geometrischen Mittelwert von 11,7 % (+ 1,2; - 1,1).

Eine mögliche Erklärung für den beobachteten, wenn auch statistisch nicht signifikant (siehe unten) höheren LI in der Gruppe der vorbehandelten Tumoren wäre ein gewisser Synchronisationseffekt der Bestrahlung auf die Population der proliferierenden Zellen. Tatsächlich läßt sich in Zellkulturen und soliden Tiertumoren eine partielle Synchronisation nach Einzeitbestrahlung beobachten, die in Mitoseverzögerung durch G_2 -Block und nachfolgendem overshoot zum Ausdruck kommt (45,75,86,94,103,105). Bei dem hier untersuchten Tumormaterial ist eine solche Möglichkeit jedoch

angesichts der sehr unterschiedlichen Dosen und zeitlichen Abstände zwischen Bestrahlung und Biopsieentnahme wenig wahrscheinlich.

Als weitere denkbare Ursachen für den höheren mittleren LI der vorbestrahlten Plattenepithelkarzinome wäre zu diskutieren: a) ein vermehrter Verlust nicht proliferierender Zellen nach Bestrahlung; b) Recruitment, d.h. der Eintritt ruhender Zellen in das proliferierende Kompartiment; c) Veränderung der Zellzyklusparameter.

Während ein vermehrter Verlust unmarkierter Zellen nach Bestrahlung wenig wahrscheinlich ist, konnte das Recruitment an transplantablen Tiertumoren eindeutig nachgewiesen werden (2,33,79,85). Auch der Befund, daß bestrahlte menschliche Lungenmetastasen während einer bestimmten Zeitspanne nach Behandlung deutlich schneller wachsen als prätherapeutisch (49,98), wurde teilweise mit einer Anhebung der Wachstumsfraktion durch Recruitment erklärt. Die Bedeutung dieses Faktors für die Erhöhung des LI im vorliegenden Untersuchungsmaterial läßt sich jedoch nicht schlüssig beurteilen. Unsicher sind schließlich auch Annahmen über strahleninduzierte Veränderungen der Zellzyklusparameter; eine Verkürzung der Zykluszeit in Relation zur S-Phase (gleichbedeutend mit einer Erhöhung des LI) scheint nach den tierexperimentellen Befunden nicht die Regel zu sein (12, 30,85,86).

Vergleicht man die Gruppe der vorbehandelten und nicht vorbehandelten Plattenepithelkarzinome mit Hilfe des U-Tests nach Wilcoxon, Mann und Whitney, so zeigt sich, daß die LI-Werte der vorbehandelten Gruppe nicht statistisch signifikant ($\alpha = 0,10$) von denen der unbehandelten Gruppe verschieden sind.

Unter der Annahme, daß die beobachteten Unterschiede im Markierungsindex nur zufällig sind, lassen sich die beiden Gruppen tentativ zusammenfassen. Die graphische Darstellung der Markierungsindices für das Gesamtkollektiv aller untersuchten Plattenepithelkarzinome in Form der kumulativen Häufigkeit im Wahrscheinlichkeitsnetz ergibt wiederum in guter Annäherung eine Gerade, somit eine log-normale Ver-

teilung. Der geometrische Mittelwert des Gesamtkollektivs beträgt 12,8 % (+ 1,3; - 1,3).

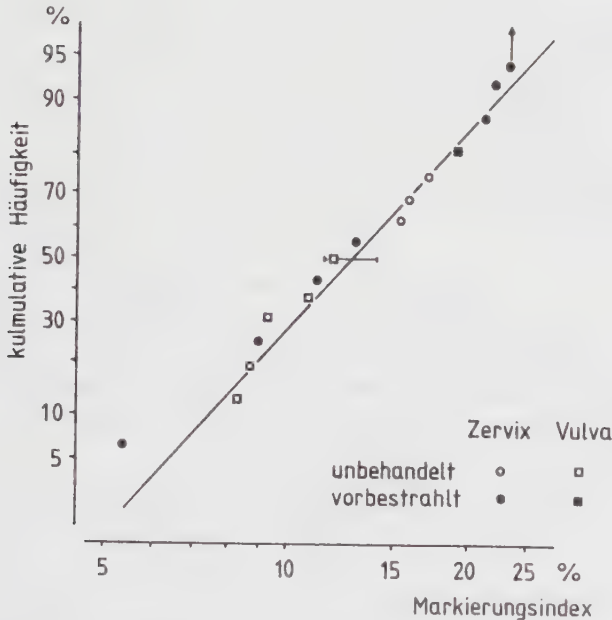


Abb. 39: Kumulative Häufigkeitsverteilung des Markierungsindex für das Gesamtkollektiv aus allen behandelten und unbehandelten Plattenepithelkarzinomen.

4.3.2. Morphologie und Markierungsmuster der vorbestrahlten Tumoren

Das histologische Bild der vorbestrahlten Tumoren zeigt keinerlei morphologische Veränderungen gegenüber der unbehandelten Vergleichsgruppe. Lediglich im Präparat Gyn d findet man, wohl als Folge der längere Zeit zurückliegenden Radiotherapie, eine ausgeprägte hyaline Stromadegeneration. Vor allem die als charakteristisch beschriebenen Veränderungen der Zellen unter Strahlentherapie (Zellschwellung, Verlust der Zell- und Kernmembran, Granulierung von Zytoplasma und Kern, abnorme Zellteilungen, Va-

kuolisierung von Zytoplasma und Kern, Zellschrumpfung und Nekrose) (18,34) können bei den hier verabreichten Dosen im gegebenen Untersuchungszeitraum nicht beobachtet werden.

Auch das Markierungsmuster der vorbestrahlten Tumoren - besonders in Abhängigkeit von Differenzierung, Tumorstruktur und Gefäßversorgung weist keine erkennbaren Unterschiede zu den Verhältnissen bei den unbestrahlten Tumoren auf. Als besonders schönes Beispiel hierfür kann das verhornende Plattenepithelkarzinom Gyn 27 gelten. Der Tumor wurde 48 Stunden vor Biopsieentnahme mit einer Herddosis von 250 R bestrahlt (Betatron). Zwischen den Bündeln der glatten Uterusmuskulatur sieht man unregelmäßige Tumornester mit beginnender zentraler Verhornung. Wie beschrieben liegen die stark markierten Tumorzellen hauptsächlich in der dem Stroma zugewandten Außenzone der Tumorknoten. Zum verhornenden Zentrum hin fallen sowohl Markierung wie auch Silberkorndichte deutlich ab.

Der Tumor, aus dem Biopsiepräparat Gyn 21 stammt, wurde am 11., 9. und 7. Tag präoperativ mit jeweils 250 R (Betatron) bestrahlt. Das Präparat zeigt neben einem kleinen Anteil verhornenden Tumorgewebes mit den typischen Gradienten von LI und Silberkorndichte von außen nach innen vornehmlich entdifferenzierte, fein dissoziierend wachsende Tumorzellstränge. Genau wie in dem strukturell analogen, nicht vorbestrahlten Tumorpräparat Gyn 37 herrscht in diesen Zellbälkchen eine auffallend hohe Markierung mit sehr hoher Silberkorndichte.

4.3.3. Das entzündliche Infiltrat in vorbestrahlten Tumoren

Alle bestrahlten Tumoren wiesen entzündliche Infiltrate auf. Im Gegensatz zum Tumorparenchym, das keinerlei morphologische Zeichen einer zellulären Strahlenschädigung zeigte, waren oft große Anteile des mononukleären Infiltrats nekrotisch. Zeichen des Zelltodes waren Kernpyknose und Karyorhexis sowie vollständiger Verlust des Zytoplasmas. In keinem der vorbestrahlten Tumorpräparate mit Ausnahme von Gyn 21 konnte eine markierte Entzündungszelle gefunden werden.

Sowohl fehlende Markierung als auch Zelltod sind erklärbar durch die sehr hohe Strahlensensibilität der Lymphozyten. Wie Cronkite und Fliedner (15) nachweisen konnten, treten innerhalb weniger Stunden nach Bestrahlung mit Dosen von ca. 25 - 50 rad an den Lymphozyten schon die ersten Kernpyknosen und Karyolysen auf (Interphasetod). Nach höheren Dosen, etwa 300 rad, ist der Untergang der Lymphozyten beinahe vollständig mit einem Maximum der morphologischen Veränderungen zwischen dem 3. und 5. Tag. Um dagegen differenzierte menschliche Zellen zum sofortigen morphologisch nachweisbaren Untergang zu bringen, sind Dosen von mehreren Tausend rad notwendig (42).

Einzige Ausnahme stellt das Präparat Gyn 21 dar mit einem weitgehend intakten und deutlich markierten Infiltrat. Der Tumor hatte eine Gesamtdosis von 750 R erhalten, wobei die letzte Einzeldosis von 250 R 7 Tage zurücklag. Nach dem oben Gesagten ist eine Regeneration der im Gewebe liegenden Lymphozyten zu diesem Zeitpunkt ausgeschlossen. Als Erklärung bietet sich das Einwandern neuer, teilungsfähiger lymphoider Zellen aus dem Blut ins Gewebe an.

4.4. Strahleninduzierte Veränderungen des Markierungsindex und prognostische Aussagemöglichkeit

Untersucht man die vorbestrahlten Karzinome von Zervix und Vulva auf zelluläre Zeichen der Strahlenwirkung, so erweisen sich fast alle Zellen als morphologisch intakt. Das Fehlen einer mikroskopisch faßbaren Schädigung bedeutet jedoch nicht, daß diese Zellen den Strahleninsult überleben werden. Bestrahlte Säugetierzellen gehen allgemein erst bei einer der nachfolgenden Zellteilungen zugrunde (92). Aufgrund zahlreicher vergleichender Untersuchungen läßt sich der Prozentsatz irreversibel geschädigter Zellen als Funktion der Dosis mit großer Sicherheit voraussagen.

Legt man die Strahlenempfindlichkeit der aus einem menschlichen Zervixkarzinom abgeleiteten HeLa-Zellen zugrunde, so läßt sich aus der von Puck und Markus (64) veröffentlichten Dosiswirkungskurve die Inaktivierung bzw. die Überlebensrate der Tumorzellen nach einmaliger Bestrahlung mit locker ionisierenden Strahlen direkt ablesen.

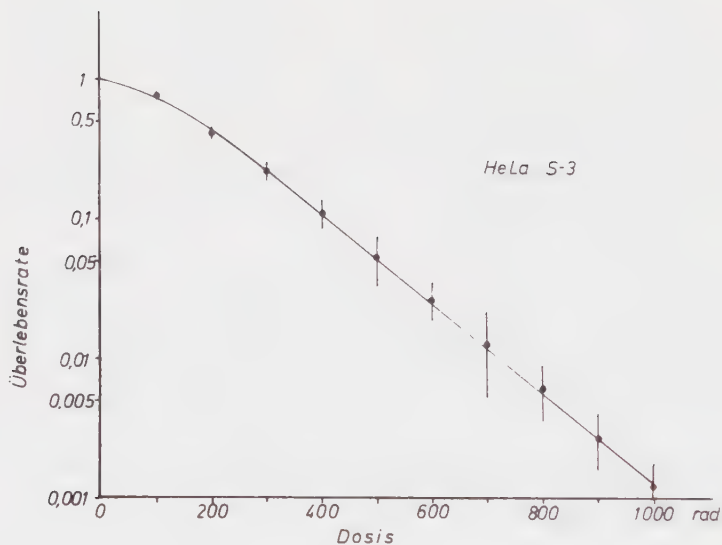


Abb. 40: Überlebenskurve von HeLa-Zellen nach Bestrahlung in vitro in Abhängigkeit von der Dosis (nach Trott (93))

Diese Überlebensrate beträgt nach einer Dosis von 250 R, wobei 1 R gleich 1 rad gesetzt wird, etwa 40 %, d.h. 60 % aller Tumorzellen sind nach einer Einzeitbestrahlung mit 250 R irreversibel geschädigt. Komplizierter liegen die Verhältnisse bei fraktionierter Bestrahlung wegen der Möglichkeit der intrazellulären Erholung (Elkind-Erholung) vorgeschädigter Zellen. Trotzdem ist es auch hier möglich eine Überlebensrate anzugeben, da die Erholung nach spätestens 12 - 18 Stunden abgeschlossen ist und nach dieser Zeit die Schulter der Dosiseffektkurve für eine Zweitbestrahlung wieder die gleiche Form aufweist wie bei einer unbestrahlten Population (21).

Danach ergeben sich bei fraktionierter Bestrahlung mit 250 R Einzeldosis und einem Fraktionierungsintervall von jeweils über 24 Stunden die folgenden Überlebensraten:

$$500 \text{ R Gesamtdosis} = 0,4 \times 0,4 = 16 \%$$

$$750 \text{ R} \quad " \quad = 0,4 \times 0,4 \times 0,4 = 6,4 \%$$

Bereits nach 250 R, noch viel mehr aber nach 500 R bzw. 750 R, besteht der Gesamttumor vorwiegend aus inaktivierten Zellen, die in einer der nachfolgenden Zellteilungen an ihrem Strahlenschaden zugrundegehen werden. Die Bestimmung des LI kurze Zeit nach Bestrahlung mit höheren Dosen wird also mehr oder weniger nur die Proliferationsaktivität bereits irreversibel geschädigter Zellen erfassen.

Trotzdem ist eine solche Bestimmung sinnvoll, da man weiß, daß die Teilungsgeschwindigkeit für Überlebende und nicht Überlebende Zellen gleich ist (20,92). Insofern beweist die Markierung in bestrahlten Tumoren indirekt auch eine von den Überlebenden Zellen ausgehende lebhaftere Repopulierung. Die oben angeführten Prozentzahlen für den Anteil inaktivierter Zellen nach Bestrahlung müssen daher um die Zellvermehrung durch Repopulierung im Bestrahlungsintervall korrigiert werden.

Das Ausmaß der Repopulierung läßt sich jedoch anhand des Markierungsindex nur sehr schwer abschätzen. Eine wesentliche Unsicherheit ergibt sich z.B. daraus, daß innerhalb der kleinen Überlebenden Zellpopulation die Wachstumsfraktion ansteigen kann, ohne daß sich dies im Gesamtmarkierungsindex bemerkbar macht. In erster Näherung könnte man die potentielle Tumorverdopplungszeit mit der effektiven Verdopplungszeit gleichsetzen. Bei einer mittleren T_D^{pot} von 4,3 Tagen ergibt sich für die ersten $4\frac{1}{2}$ Tage ein Zellzuwachs um den Faktor 2, bei einer (denkbaren) Verdopplung der Wachstumsfraktion um den Faktor 4.

Aber auch der Übertritt ruhender (G_0 -) Zellen in das proliferierende Kompartiment könnte als zellkinetischer Faktor während oder nach Bestrahlung eine Rolle spielen. Findet dieses Recruitment in genügendem Umfang statt, so müßte dies zu einer Zunahme des LI führen, wie bereits diskutiert

wurde (siehe 4.3.1.). Selbst die qualitative Abschätzung ist aus dem Markierungsindex allein jedoch nicht möglich. Das Autoradiogramm läßt speziell im vorliegenden Fall nur die Aussage zu, daß die Zellen - wegen des gleichbleibenden Markierungsmusters - nicht aus den topographisch vorwiegend ruhenden Parenchymzonen stammen.

Trotz dieser prinzipiellen Einschränkungen über die Aussagefähigkeit des Markierungsindex nach Bestrahlung hat es nicht an Versuchen gefehlt, zwischen dem Verhalten des LI und der Strahlenempfindlichkeit des Tumors und damit der individuellen Heilungsaussicht des Patienten eine Korrelation darzustellen.

Fettig, Kaltenbach und Kloke (26) bestrahlten 21 Patientinnen mit einem Plattenepithelkarzinom der Zervix mit ^{60}Co . Sie bestimmten den ^3H -TdR-Markierungsindex in Biopsiepräparaten, die sie vor Beginn sowie am 10. Tag der Strahlentherapie, bei einer mittleren Dosis von 1500 R, entnahmen. Anschließend erhielten alle Patientinnen die gleiche Radiumbehandlung. Aus dem Rückgang des LI unter Therapie stellten sie eine Prognose, die sie mit dem klinischen Befund nach Abschluß des ersten Behandlungsjahres verglichen. Sie beschrieben eine Übereinstimmung von 78 % zwischen ihrer Prognose und dem klinischen Verlauf.

Breitenecker und Tatra (9) untersuchten 35 Patientinnen mit Zervixkarzinom, die mit Radiumeinlage und Telekobalttherapie behandelt wurden. Sie bestimmten den LI in Biopsiematerial vor Behandlungsbeginn und nach Verabreichung von einer Teildosis bis zur Hälfte der festgelegten Gesamtdosis. Von 9 Fällen, bei denen zur Therapiehalbzeit noch markierte Zellen im Biopsiematerial zu finden waren, blieben nach zwei Jahren nur 3 ohne Lokalrezidiv, während retrospektiv unter 7 Patientinnen mit Rezidiv nur eine keine markierten Zellen im Autoradiogramm aufwies.

Zusammenfassend läßt sich feststellen: Der Markierungsindex liefert nur eingeschränkte Informationen über die Proliferation überlebender Zellen nach Bestrahlung. Trotzdem zeigen klinische Versuche über die Korrelation zwischen dem

Verhalten des LI unter Therapie und der Tumorheilung gerade beim Zervixkarzinom erste positive Resultate. Genauere Aussagen über den prognostischen Wert des Markierungsindex bedürfen jedoch noch weiterer Untersuchungen.

5. ANHANG: HISTOLOGISCHE TECHNIKEN

5.1. Einbettung in Methacrylat

Die Einbettung besteht in einer Fixierung und Entwässerung, ähnlich wie bei der Paraffineinbettung. Dann erfolgt stufenweise Überführung in monomeres Acrylat und Einbettungsgemisch, das anschließend polymerisiert wird.

- Fixierung in gepufferter Formol-Alkohol-Lösung für mindestens 48 Stunden.
Zusammensetzung: 4 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ und 6,5 g Na_2HPO_4 wasserfrei in 800 ml H_2O lösen + 200 ml Formaldehydlösung 37 %ig + 570 ml Alkohol 99 %ig.
- Entwässerung im Einbettungsautomaten in der aufsteigenden Alkoholreihe bis Alkohol 99 %ig (7-8 Stunden).
- Weitere Dehydrierung in Äthanol 100 %ig über Nacht auf dem Schüttler. Äthanol 100 %ig wird durch Entwässern von 99 %igem Äthanol über einem Molekularsieb (3 Å) gewonnen.
- Äthanol 100 %ig und Methacrylsäure-Methylester im Volumenverhältnis 1 : 1 (2-3 Stunden).
- 2 x Methacrylat monomer (jeweils 2-3 Stunden).
Nach der Übertragung in Methacrylat monomer wird jeweils im Exsiccator für ca. 5 Minuten evakuiert.
- Übertragung in das endgültige Einbettungsgemisch (über Nacht).
Zusammensetzung: 100 ml Methacrylsäure-Methylester + 30 ml Phthalsäuredibutylester + 2,5 g Dichlorbenzoylperoxid. Der Phthalsäuredibutylester fungiert dabei als Weichmacher, das Dichlorbenzoylperoxid als Starter der Polymerisation.
- Anpolymerisieren des Gemisches (ca. 2 Stunden).
Vor der Inkubation im Schüttelwasserbad bei 45°C wird die Luft in der Probenflasche gegen N_2 ausgetauscht.
- Eingießen der Proben in Glasfläschchen, die mit perforiertem Schnappdeckel verschlossen werden. Anschließend Aushärten im Wasserbad bei ca. 45°C über mehr als 24 Stunden.

5.2. Hämatoxylin-Eosin Färbung der Autoradiogramme

- 15 Minuten Kardasewitsch-Lösung.
Zusammensetzung: 180 ml Äthanol 80 %ig + 20 ml Ammoniak 25 %ig.
- 5 Minuten Brunnenwasser.
- 5 Minuten aqua dest.
- 17 Minuten Mayers Hämatoxylin.
Anschließend kurz in 5 %ige Kalialaunlösung eintauchen.
Die Gelatine wird hierdurch weitgehend entfärbt, ohne daß die Kernfärbung nennenswert abgeschwächt wird.
- 5 - 10 Minuten Brunnenwasser.
- 8 Minuten Eosin 0,1 %ig.
Dann rasch in aufsteigender Alkoholreihe entwässern.
- 2 x 96 %ig Äthanol.
- 2 x 99 %ig Äthanol.
- 2 x Xylol. Anschließend eindecken mit Eukitt.

5.3. PAS Färbung der histologischen Präparate

- 30 Minuten Kardasewitsch-Lösung.
- 5 Minuten Brunnenwasser.
- 5 Minuten aqua dest.
- 10 Minuten Orthoperjodsäure 0,5 %ig.
- 5 Minuten Brunnenwasser. In aqua dest. abspülen.
- 15 Minuten Schiff's Reagenz.
Zusammensetzung: 1 g Pararosanilin + 1,9 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ in 100 ml 0,15 n HCl lösen.
Lösung häufig schütteln und 24 - 48 Stunden im Kühlschrank stehen lassen.
- 2 x in Sulfitwasser eintauchen.
Zusammensetzung: 1 Spatelspitze Na- (oder K-) Pyrosulfit auf eine Küvette (200 ml) 0,1 n HCl.
- 15 Minuten Brunnenwasser. Anschließend in aqua dest. eintauchen.

- 15 Minuten Hämalaun.

- Wässern.

Dann rasch in aufsteigender Alkoholreihe entwässern.

- 2 x Äthanol 96 %ig.

- 2 x Äthanol 99 %ig.

- 2 x Xylol. Anschließend eindecken mit Eukitt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In Zusammenarbeit mit der I. Universitäts-Frauenklinik München (Direktor Prof. Dr. J. Zander) wurden 23 Biopsiepräparate gynäkologischer Tumoren autoradiographisch untersucht. Das Material schlüsselt sich auf in 12 Portiokarzinome, 7 Vulvakarzinome und 4 Mammakarzinome, die teilweise eine Kurzzeitvorbestrahlung bis zu 750 R erfahren hatten.

Die vitalen Gewebspartikel wurden unmittelbar nach Biopsientnahme in native Scheibchen von 370 μm Dicke zerlegt und in einem Drucktank bei 2,5 atÜ O_2 für 2 Stunden mit ^3H -Thymidin inkubiert. Nach Einbettung in Methacrylat wurden 3 μm dicke Schnitte hergestellt und nach der dipping-Methode autoradiographiert. Es gelang in allen Fällen histologisch und autoradiographisch einwandfreie Schnitte zu erzielen. Insbesondere waren die Scheibchen in allen Gewebsschichten zuverlässig markiert.

Bei den 12 Karzinomen der Portio handelt es sich um 10 Plattenepithelkarzinome, 1 Adenokarzinom und 1 carcinoma in situ. Unter 7 Vulvakarzinomen finden sich 6 Plattenepithelkarzinome und 1 malignes Melanom. Sämtliche Mammakarzinome sind patho-histologisch als Adenokarzinome mit produktiver Fibrose anzusprechen.

Das Markierungsmuster der Plattenepithelkarzinome ließ eine Abhängigkeit von Differenzierung und Tumorstruktur erkennen. Bei den hoch differenzierten Karzinomen fanden sich markierte Zellen fast ausschließlich in einer schmalen Zellschicht in der Peripherie solider Tumorknoten. Diese Schicht wird mit zunehmender Entdifferenzierung immer breiter. Kleine Zellnester und dissoziierend wachsende Tumorausläufer der Invasionsfront waren in der Regel höher markiert als mehr kompakte Tumoranteile. In größeren Tumorknoten oder bei medullär wachsenden Karzinomen ließ sich eine gewisse Beziehung zum Stroma bzw. zur Gefäßversorgung nachweisen.

Quantitativ betrachtet gehören die Plattenepithelkarzinome von Zervix und Vulva (vorbestrahlt und unbehandelt) mit

einem mittleren Markierungsindex (geometr. Mittel) von 12,8 % (Streubreite 5,4 - 23,1 %) zu den schnell proliferierenden Tumoren. Die Markierungsindices sind in guter Näherung log-normal verteilt.

Als potentielle Verdopplungszeit der Plattenepithelkarzinome errechnen sich Werte zwischen 2,6 und 12,0 Tagen. Unter der Annahme einer effektiven Verdopplungszeit von 2 Monaten ergibt sich hieraus ein Zellverlust zwischen 88 und 96 %.

In der Gruppe der vorbehandelten Plattenepithelkarzinome liegt der mittlere Markierungsindex mit 14,0 % gering, wenn auch statistisch nicht signifikant höher als in der unbehandelten Vergleichsgruppe mit 11,7 %. Die Markierungsindices beider Gruppen sind jeweils log-normal verteilt.

Die untersuchten Mammakarzinome weisen Markierungsindices zwischen 1,5 und 3,1 % auf und besitzen demnach eine vergleichsweise geringe Zellneubildungsrate.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ASCHOFF, L., F. KRAUG, C. KRAUS: Zur Frage der Beeinflußbarkeit tiefliegender Krebse durch strahlende Energie. Münch. Med. Wochenschrift 60, (1913), 341-377 und 413-417
2. BARENDSEN, G.W., J.J. BROERSE: Experimental radiotherapy of a rat rhabdomyosarcoma with 15 MeV neutrons and 300 kV X-rays. I. Effects of single exposures Europ. J. Cancer 5, (1969), 373-391
3. BASERGA, R., G.C. HENEGAR, W.E. KISIELESKI, H. LISCO: Uptake of tritiated thymidine by human tumors in vivo. Laboratory Invest. 11, (1965), 360-364
4. BEDFORD, J.: Discussion. In: Time and dose relationships in radiation biology as applied to radiotherapy. Conference at Carmel, California, (1969). Brookhaven Natl. Lab. Rep. 50203, (1970), 225-227
5. BENNINGTON, J.L.: Cellular kinetics of invasive squamous carcinoma of the human cervix. Cancer Res. 29, (1969), 1082-1088
6. BLACK, M.M., F.D. SPEER: Immunology of cancer. Int. Abstr. Surg. 109, (1959), 105
7. BONILLA - MUSOLES, F.: Autoradiographische Untersuchungen am Plattenepithel der Cervix uteri. Schweiz. Z. Gynäk. Geburtsh. 3, (1972), 3-15
8. BORN, R., O. HUG, K.R. TROTT: The effect of prolonged hypoxia on growth and viability of chinese hamster cells. Int. J. Radiation Onc. Biol. Phys. 1, (1976), 687-697
9. BREITENECKER, G., G. TATRA: Histoautoradiographische Untersuchungen während der Strahlentherapie des Zervixkarzinoms. Strahlentherapie 146, (1973), 664-670
10. BRESCIANI, F.: Cell proliferation in cancer. Europ. J. Cancer 4, (1968), 343-366

11. BRINKMANN, W., P. DÖRMER: In vitro - Verfahren zur Bestimmung der DNS-Synthese-Dauer einzelner Zellen. Biochemische Voraussetzungen und Ergebnisse. Histochemie 30, (1972), 335-343
12. BROWN, J.M., R.J. BERRY: Effects of X-irradiation on cell proliferation in normal epithelium and in tumours of the hamster cheek pouch. In: Effects of radiation on cellular proliferation and differentiation (IAEA), Vienna, (1968), 475-491
13. BUDIHA, M., J. SKRK, L. SMID, L. FURLAN: Tumor cell repopulation in the rest interval of split-course radiation treatment. Strahlentherapie 156, (1980), 402-408
14. COONS, H., A. NORMAN, A.M. NAHUM: In vitro measurements of human tumor growth. Cancer 19, (1966), 1200-1204
15. CRONKITE, E.P., T.M. FLIEDNER: The radiation syndromes. In: Handbuch der Medizinischen Radiologie, Bd.II/3 Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, (1972), 299-340
16. DE COSSE, J., S. GELFANT: Noncycling tumor cells: mitogenic response to antilymphocytic serum. Science 162, (1968), 698-699
17. DÖRMER, P., W. BRINKMANN, R. BORN, G.G. STEEL: Rate and time of DNA synthesis of individual chinese hamster cells. Cell and Tissue Kinet. 8, (1975), 399-412
18. DUBRAUSZKY, V.: Assessment of radiosensitivity of carcinoma of the cervix. J. Obst. Gynec. Brit. Cwlth. 73, (1966), 41-43
19. ELEQUIN, F.T., F.M. MUGGIA, N.A. GHOSSEIN, P.J. AGER, V. KRISHNASWAMY: Correlation between in vitro labeling indices (LI's) and tumor regression following radiotherapy. Int. J. Radiation Onc. Biol. Phys. 4, (1978), 207-213

20. ELKIND, M.M., H. SUTTON, W.E. MOSES: Postirradiation survival kinetics of mammalian cells grown in culture. J. Cell Comp. Phys. 58, Supplement 1, (1961), 113-134
21. ELKIND, M.M., H. SUTTON: Radiation response of mammalian cells grown in culture. I. Repair of X-ray damage in surviving chinese hamster cells. Radiat. Res. 13, (1960), 556-593
22. ENTHAMMER, G.: Untersuchungen zur Proliferationskinetik maligner Melanome des Menschen. Diss; Universität München, (1977)
23. FABRIKANT, J.I., CH. L. WISSEMAN, M.J. VITAK: The kinetics of cellular proliferation in normal and malignant tissues. Radiology 92, (1969), 1309-1320
24. FETTIG, O., R. SIEVERS: ^3H -Index und mittlere Generationszeit des menschlichen Portiokarzinoms und seiner Vorstufen. Beitr. Path. Anat. 133, (1966), 83-100
25. FETTIG, O., W. DEHLERT: Autoradiographische Untersuchungen der DNS- und Eiweißneubildung im gynäkologischen Untersuchungsmaterial. Archiv für Gynäkologie 199, (1964), 649-662
26. FETTIG, O., F.B. KALTENBACH, W.D. KLOKE: Der " ^3H -Thymidin-Test" zur Beurteilung der Strahlensensibilität des Collum-Carcinoms. Archiv für Gynäkologie 213, (1973), 283-292
27. FISHER, E.R., R.M. GREGORIO, B. FISHER: The pathology of invasive breast cancer: a syllabus derived from findings of the National Surgical Adjuvant Breast Project (Protocol N.4). Cancer 36, (1975), 1-20
28. FOURNIER, D.v., H. KUTTIG, F. KUBLI, P. PRAGER, H. STOLPE, A. MAIER, J. HÜTER: Wachstumsgeschwindigkeit des Mammakarzinoms und röntgenologische "Frühdiagnosen". Strahlentherapie 151, (1976), 318-332

29. FRINDEL, E., E. MALAISE, M. TUBIANA: Cell proliferation kinetics of five human solid tumors.
Cancer 22, (1968), 611-617
30. FRINDEL, E., F. VASSORT, M. TUBIANA: Effects of irradiation on the cell cycle of an experimental ascites tumour of the mouse. Int. J. Radiation Biol. 17, (1970), 329-337
31. GLÜCKSMÄNN, A., F.G. SPEAR: The qualitative and quantitative histological examination of biopsy material from patients treated by radiation for carcinoma of the cervix uteri. Brit. J. Radiol. 18, (1945), 313-322
32. GLUCKSMANN, A., S. WAY: On the choice of treatment of individual carcinoma of the cervix uteri based on the analysis of serial biopsies. J. Obstetr. Gynecol. Brit. Emp. 55, (1948), 573-582
33. GRISWOLD, D.P., F.M. SCHABEL, W.S. WILCOW, L. SIMPSON-HERREN, H.E. SKIPPER: Success and failure in the treatment of solid tumour. Cancer Chemotherapy Reports 52, (1968), 345-387
34. GUSBERG, S.B., G.G. HERMAN: Radiosensitivity and virulence factors in cervical cancer. Am. J. Obst. Gynec. 100, (1968), 627-636
35. GUSBERG, S.B., G.G. HERMAN: Radiosensitivity testing of cervix cancer by the test dose technique. Am. J. Roentgen. 87, (1962), 60-68
36. HAAGENSEN, C.D., N. LANE, R. LATTES, C. BODIAN: Lobular neoplasia (so-called lobular carcinoma in situ) of the breast. Cancer 42, (1978), 737-769
37. HAMPERL, H., G. SCHWARZ: Zur genaueren Kenntnis der Röntgenwirkung auf Krebsgeschwülste. Strahlentherapie 26, (1927), 607-659

38. HEENEN, M., G. ACHTEN, P. GALAND: Autoradiographic analysis of cell kinetics in human normal epidermis and basal cell carcinoma. *Cancer Res.* 33, (1973), 123-127
39. HEIDELBERGER, C.: Pyridine and pyrimidine nucleoside antimetabolites. In: *Cancer Medicine*. Editor: J.F. Holland, E. Frie III. Lea & Febiger, Philadelphia, (1973), 768-791
40. HERMENS, A.F., G.W. BARENDSEN: Cellular proliferation patterns in an experimental rhabdomyosarcoma in the rat. *Europ. J. Cancer* 3, (1967), 361-369
41. HIRST, D.G., J. DENEKAMP: Tumour cell proliferation in relation to the vasculature. *Cell Tissue Kinet.* 12, (1979), 31-42
42. HUG, O.: *Medizinische Strahlenkunde*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, (1974)
43. ILIYA, F.A., H.A. AZAR: Radioautographic studies in neoplasia of the uterine cervix. *Am. J. Obst. & Gynec.* 99, (1967), 515-521
44. JOHNSON, H.A., V.P. BOND: A method of labeling tissues with tritiated thymidine in vitro and its use in comparing rates of cell proliferation in duct epithelium, fibroadenoma, and carcinoma of human breast. *Cancer* 14, (1961), 639-643
45. LINDEN, W.A., F. ZYWIETZ, H. LANDEN, C. WENDT: Synchronisation des Teilungszyklus von L-Zellen in der G₂-Phase durch fraktionierte Röntgenbestrahlung und Daunomycin. *Strahlentherapie* 146, (1973), 216-225
46. LIVINGSTON, R.B., U. AMBUS, S.L. GEORGE, E.J. FREIREICH, J.S. HART: In vitro determination of thymidine-³H-labeling index in human solid tumors. *Cancer Res.* 34, (1974), 1376-1380
47. MALAISE, E.: Changes in volume of irradiated human metastases. *Brit. J. Cancer* 26, (1972), 43-48

48. MALAISE, E., N. CHAVALDRA, M. TUBIANA: The relationship between growth rate, labeling index and histological type tumours. *Europ. J. Cancer* 9, (1973), 305-311
49. MALAISE, E., A. CHARBIT, N. CHAVALDRA, P.F. COMBES, J. DOUCHEZ, M. TUBIANA: Change in volume of irradiated human metastases. Investigation of repair of sublethal damage and tumour repopulation. *Brit. J. Cancer* 26, (1972), 43-52
50. MARQUES - PEREIRA, J.P., C.P. LEBLOND: Mitosis and differentiation in the stratified squamous epithelium of rat esophagus. *Am. J. Anat.* 117, (1965), 73-89
51. MENDELSON, M.L.: The kinetics of tumor cell proliferation. In: *Cellular Radiation Biology. Papers presented at the Eighteenth Annual Symposium of Fundamental Cancer Research.* Williams and Wilkins, Baltimore, (1965)
52. MENDELSON, M.L., F.C. DOHAN, H.A. MOORE: Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer of C₃H mouse. III. The growth fraction. *J. Nat. Cancer Inst.* 28, (1962), 1015-1021
53. MEYER, J.S.: Cell proliferation in normal human breast ducts, fibroadenomas, and other ductal hyperplasias measured by nuclear labeling with tritiated thymidine. *Human Pathology* 8, (1977), 67-81
54. MEYER, J.S., W.C. BAUER, B.R. RAO: Subpopulations of breast carcinoma defined by S-phase fraction, morphology, and estrogen receptor content. *Laboratory Invest.* 39, (1978), 225-235
55. MEYER, J.S., W.C. BAUER: In vitro determination of tritiated thymidine labeling index (LI). *Cancer* 36, (1975), 1374-1380

56. MEYER, J.S., R.E. CONNOR: In vitro labeling of solid tissues with tritiated thymidine for autoradiographic detection of S-phase nuclei. *Stain Technology* 52, (1977), 185-195
57. MEYER, J.S., R. FACHER: Thymidine labeling index of human breast carcinoma. *Cancer* 39, (1977), 2524-2532
58. MURPHY, W.K., R.B. LIVINGSTON, V.G. RUIZ, S.L. GEORGE, F.G. GERCOVICH, J.S. HART, E.J. FREIREICH: Serial labeling index determination as a predictor of response in human solid tumors. *Cancer Res.* 35, (1975), 1438-1444
59. NORDENSKJÖLD, B., A. ZETTERBERG, T. LÜWHAGEN: Measurement of DNA synthesis by ^3H -thymidine incorporation into needle aspirates from human tumors. *Acta Cytologica* 18, (1974), 215-221
60. NORDENSKJÖLD, B., T. LÜWHAGEN, H. WESTERBERG, J. ZAJICEK: ^3H -thymidine incorporation into mammary carcinoma cells obtained by needle aspiration before and during endocrine therapy. *Acta Cytologica* 20, (1976), 137-143
61. OEHLERT, W., J. CATE, F. BÜCHNER: Autoradiographische Untersuchungen zur Kanzerisierung der Epidermiszelle der Mäusehaut nach Methylcholanthrenpinselung. *Beitr. path. Anat.* 125, (1961), 280-287
62. PECKHAM, B., W. KIEKHOFER: Cellular behavior in the vaginal epithelium of estrogen-treated rats. *Am. J. Obst. & Gynec.* 83, (1962), 1021-1026
63. POST, J., R.J. SKLAREW, J. HOFFMANN: The proliferative patterns of human breast cancer cells in vivo. *Cancer* 39, (1977), 1500-1507
64. PUCK, T.T., P.J. MARKUS: Action of X-rays on mammalian cells. *J. exp. med.* 103, (1956), 653-660

65. RABES, H.: Bestimmung der Zellzyklusphasen in heterogenen Tumorzellpopulationen in vivo.
Z. Naturforsch. 24b, (1969), 468
66. RABES, H., P. CARL, P. MEISTER, U. RATTENHUBER:
Analysis of proliferative compartments in human tumors. I. Renal adenocarcinoma.
Cancer 44, (1979), 799-813
67. RAJEWSKY, M.F.: Thymidin-Inkorporation und O_2 -Konzentration in Explantaten normaler und maligner Gewebe "in vitro". Naturwissenschaften 52, (1965), 341-342
68. RAJEWSKY, M.F.: Proliferative properties of malignant cell systems. In: Handbuch der allgemeinen Pathologie VI, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, (1974), 289-325
69. RAJEWSKY, M.F.: In vitro studies of cell proliferation in tumours II. Europ. J. Cancer 1, (1965), 281-187
70. RAJEWSKY, M.F.: Zellproliferation in normalen und malignen Geweben: 3H -Thymidineinbau in vitro unter Standardbedingungen.
Biophysik 3, (1966), 65-93
71. REFSUM, S.B., P. BERDAL: Cell loss in malignant tumours in man. Europ. J. Cancer 3, (1967), 235-236
72. REICHARD, P.B., B. ESTBORN: Utilisation of desoxyribosides in the synthesis of polynucleotides.
J. Biol. Chem. 188, (1951), 839-843
73. RICHART, R.M., J. FREDERICK: Growth of "pure" cervical epithelium in vitro. Am. J. Obst. & Gynec. 88, (1964), 710-714
74. SCOTT, F.W., D.R. FORSDYKE: Isotope-dilution studies on the effects of 5-fluorodesoxyuridine and hydroxyurea on the incorporation of desoxycytidine and thymidine by cultured thymus cells.
Can. J. Biochem. 54, (1976), 238-248

75. SEYDEL, H.G.: Mitotic delay after fractionated irradiation of autotransplants of a spontaneous mouse tumor. *Am. J. Roentgenol.* 100, (1967), 938-948
76. SHIRAKAWA, S., J.K. LUCE, J. TANNOCK, E. FREI: Cell proliferation in human melanoma. *J. Clin. Invest.* 49, (1970), 1188-1199
77. SILVESTRINI, R., O. SANFILIPPO, G. TEDESCO: Kinetics of human mammary carcinomas and their correlation with cancer and the host characteristics. *Cancer* 34, (1974), 1252-1258
78. SIRACKY, J., J. MATOSKA, E. SIRACKA: Cell proliferation kinetics in gynecologic cancer. *Neoplasma* 24, (1977), 327-332
79. SKIPPER, H.E.: Kinetics of mammary tumor cell growth and implications for therapy. *Cancer* 28, (1971), 1479-1499
80. STEEL, G.G.: Cell loss as a factor in the growth rate of human tumours. *Europ. J. Cancer* 3, (1967), 381-387
81. STEEL, G.G., J.P.M. BENSTED: In vitro studies of cell proliferation in tumours I. *Europ. J. Cancer* 1, (1965), 275-279
82. STEEL, G.G., L.F. LAMERTON: The growth rate of human tumours. *Brit. J. Cancer* 20, (1966), 74-80
83. STRAUS, M.J., R.E. MORAN: Cell cycle parameters in human solid tumors. *Cancer* 40, (1977), 1453-1461
84. SULKES, A., R. LIVINGSTON, G. TAYLOR: Pre-treatment labeling index (LI%) in breast carcinoma patients as a predictor of response to combination chemotherapy. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res. and ASCO* 17, (1976), 59

85. SZCZEPANSKI, L.v., O. HUG, G. SPANGENBERG: Fraktionierungsstudien an transplantablen Tiertumoren unter zellkinetischen Aspekten. In: Präoperative Tumorbestrahlung. Hrsg: O. Hug Urban und Schwarzenberg-Verlag, München, (1971)
86. SZCZEPANSKI, L.v., K.R. TROTT: Post-irradiation proliferation kinetics of a serially transplanted murine adenocarcinoma. Brit. J. Radiol. 48, (1975), 200-208
87. TANNOCK, J.F.: The relation between cell proliferation and the vascular system in a transplanted mouse mammary tumour. Brit. J. Cancer 22, (1968), 258-273
88. TANNOCK, J.F., G.G. STEEL: Tumor growth and cell kinetics in chronically hypoxic animals. J. Nat. Cancer Inst. 45, (1970), 123-129
89. TAYLOR, J.H., P.S. WOODS, W.L. HUGHES: The organisation and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. Proc. Nat. Acad. Sci. 43, (1957), 122-130
90. TERZ, J.J., H.P. CURUTCHET, W. LAWRENCE: Analysis of the cell kinetics of human solid tumors. Cancer 28, (1971), 1100-1110
91. TROTT, K.R.: Can tumour response be assessed from a biopsy? unveröffentlicht
92. TROTT, K.R.: Das Proliferationsmuster unbestrahlter und röntgenbestrahlter Säugetierzellen in vitro (Zeitraffermikrokinematographische Studien). Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität München, (1974)
93. TROTT, K.R.: persönliche Mitteilung
94. TROTT, K.R.: Strahlenwirkung auf die Vermehrung von Säugetierzellen. In: Handbuch der Medizinischen Radiologie Bd. II/3, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, (1972), 43-125

95. TROTT, K.R., H.G. HEINZE, B. KIESEL, G. KOLLMANN,
J. KUMMERMEHR: Die Wachstumsgeschwindigkeit von
Lungenmetastasen. Strahlentherapie 155,
(1979), 748-753
96. TUBIANA, M., J.M. RICHARD, E. MALAISE: Kinetics of
tumor growth and of cell proliferation in
U.R.D.T. cancers: therapeutic implications.
Laryngoscope 85, (1975), 1039-1052
97. TUBIANA, M.: The kinetics of tumour cell prolifera-
tion and radiotherapy. Brit. J. Radiol. 44,
(1971), 325-347
98. VAN PEPERZEEL, H.A.: Effects of single doses of
radiation on lung metastases in man and experi-
mental animals. Europ. J. Cancer 8, (1972),
665-675
99. WALTER, L., C.V. HARRISON, A. GLÜCKSMANN, C.P. CHERRY:
Assessment of response of cervical cancers to
irradiation by routine histological methods.
Brit. Med. J. 1, (1964), 1673-1675
100. WEINSTEIN, G.D., P. FROST: Cell proliferation in
human basal cell carcinoma.
Cancer Res. 30, (1970), 724-727
101. WOLF - JÜRGENSEN, P., A.W. KOPF, G. LIPKIN, R.S. BART:
Influence of anti-lymphocytic serum on
malignant melanoma. J. Invest. Dermat. 51,
(1968), 441-444
102. YANAGITA, T., G.G. HERMAN, S.B. GUSBERG: Autoradio-
graphic studies in cervical cancer before and
after a test dose of irradiation.
Am. J. Obst. & Gynec. 95, (1966), 1051-1058
103. YOUNG, J.M., J.F. FOWLER: The effect of X-ray-induced
synchrony on two-dose cell survival experiments.
Cell and Tissue Kinetics 2, (1969), 95-111
104. YOUNG, R.C., V.T. DE VITA: Cell cycle characteristics
of human solid tumors in vivo.
Cell and Tissue Kinetics 3, (1970), 285-290

105. ZYWIETZ, F., W.A. LINDEN, H. JUNG: Flußzytometrische Untersuchungen zur Synchronisation von Zellkulturen und soliden Tumoren durch Bestrahlung und Zytostatika. In: Kombinierte Strahlen- und Chemotherapie. Hrsg: M. Wannenmacher, F. Gauwerky, Chr. Streffer. Urban und Schwarzenberg-Verlag, München, (1979), 38-45

8. LEBENSLAUF

30. Januar 1952	geboren in Traunstein als Sohn des Kaufmanns Josef Wehweck und seiner Ehefrau Cäcilia, geb. Wimmer
1958 - 1963	Besuch der Volksschule in Schlechting
1963 - 1972	Besuch des Staatl. Landschul- heims Marquartstein
23. Juni 1972	Ablegung der Reifeprüfung
Juli 1972 - September 1973	Grundwehrdienst
November 1973 - September 1979	Studium der Humanmedizin an der Ludwig - Maximilians - Univer- sität München
26. November 1979	Erteilung der Approbation als Arzt
Seit Mai 1980	Assistenzarzt an der Abteilung für Röntgendiagnostik und Nuklearmedizin am Städt. Kran- kenhaus München - Neuperlach

HUBERT WEHWECK

